



Nádia Fonseca
Ferreira

**Erradicação de 2,4,6-Tricloroanisol em granulados
de cortiça**



**Nádia Fonseca
Ferreira**

**Erradicação de 2,4,6-Tricloroanisol em granulados
de cortiça**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica do Professor João Filipe Colardelle da Luz Mano, Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e coorientação do Doutor Paulo Dinis Lopes, enólogo e encarregado de vários projetos sobre a erradicação de TCA.

"Freedom is the freedom to say that two plus two make four."

George Orwell, 1984

o júri

Presidente

Doutor Carlos Manuel Silva

Professor Associado do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor João Filipe Colardelle da Luz Mano

Professor Catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutora Carmen Sofia da Rocha Freire Barros

Equiparada a Investigadora Principal do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Ao grupo Amorim & Irmãos, S.A. pela oportunidade de estágio profissional e constante aprendizagem.

Ao Professor Doutor Miguel Cabral pela confiança depositada e pelo incentivo a aprender mais. Ao Doutor Paulo Lopes pelo acompanhamento ao longo do projeto, pela disponibilidade e transmissão de conhecimentos. Ao José Pedro Machado pela disponibilidade e boa disposição. À Eng^a. Ana Malheiro e à Salomé Reis por toda a ajuda e todo o conhecimento transmitido. Às colaboradoras Andreia Oliveira, Glória Espinheira, Patrícia Oliveira, Joaquina Laranjeira e Rosa Castro pelos ensinamentos, acolhimento e amizade que transmitiram desde o primeiro dia. À Ana Cruz, à Sofia Lima e ao Wilson Pereira que me acompanharam ao longo deste percurso, pela paciência, pelas gargalhadas e pela amizade partilhada. A todos os colaboradores da unidade industrial Manuel Pereira de Sousa e do laboratório PortoCork pela ajuda prestada.

Ao Professor Doutor João Mano pelo acompanhamento e ajuda.

À minha família, presente em mais uma etapa importante na minha vida. Pela paciência, confiança, companhia e constante apoio ao longo de todo o meu percurso académico.

A todos os meus amigos por todas as histórias partilhadas e pela amizade nunca negada.

palavras-chave

Cortiça, Granulado, Rolhas, TCA Libertável, TCA Total, HS-SPME/GC-ECD, ROSA, FBT

resumo

O sobreiro é uma árvore que se destaca pela sua matéria prima – a cortiça. Esta possui características únicas, o que faz com que tenha uma panóplia de utilidades.

As rolhas de cortiça são o produto mais importante da indústria corticeira, pelo valor acrescentado que apresentam sempre associado aos diferentes tipos de rolhas produzidas. Porém, a cortiça possui um composto - o 2,4,6 – tricloroanisol (TCA) que possui aroma desagradável. Este é o principal responsável pelos desvios sensoriais no vinho associados à rolha de cortiça.

As rolhas aglomeradas são um produto económico e bastante versátil, constituídas na sua maioria por grânulos de cortiça. Estes também podem estar contaminados com TCA.

Neste trabalho foram avaliadas as tecnologias ROSA® e FBT, existentes na A&I, para a remoção de TCA em grânulos de cortiça, com 1-2 e 3-7 mm, altamente contaminados com valores médios de 8 e 16 ng/L. A quantificação de TCA nos granulados de cortiça antes e após tratamento foi feita por cromatografia com deteção ECD (*Electron Capture Detector*) através de injeção direta ou de microextração em fase sólida. O TCA analisado é o libertável para uma solução diluída de etanol que mimetiza o vinho ou o total que resulta da forte extração de TCA presente nos grânulos de cortiça por meio de solvente orgânico.

Os resultados obtidos permitiram validar a eficácia do sistema ROSA® cujos valores de TCA libertável, em grânulos de 1 a 2 mm após tratamento, ficaram abaixo dos limites de quantificação da tecnologia de análise (0,5 ng/L).

Em grânulos de 3 a 7 mm, a associação sequencial da tecnologia ROSA com o FBT mostrou uma eficácia bastante elevada, permitindo a obtenção de grânulos com TCA inferior ao limite de quantificação do método cromatográfico usado, mitigando os efeitos negativos de aumento da densidade dos grânulos associados ao tratamento ROSA.

keywords

Cork, Granulated cork, Cork stoppers, Releasable TCA, Total TCA, HS-SPME/GC-ECD, ROSA, FBT.

abstract

The cork oak is a tree that stands out for its raw material – the cork. This one has unique characteristics, which makes it have a wide range of utilities. Cork stoppers are the most important product of the cork industry, for the added value they always have associated with different types of corks produced. However, cork has a compound – 2,4,6-trichloroanisole (TCA) that has an unpleasant flavor. This is the main responsible for the sensorial deviations in wine associated with the cork stopper.

Agglomerated corks are an economical and quite versatile product, consisting mostly of cork granules. These may also be contaminated with TCA.

In this work, we evaluated ROSA® and FBT technologies, available in Amorim & Irmãos, for the removal of TCA in cork granules, with 1-2 and 3-7 mm, highly contaminated with mean values of 8 and 16 ng/L. The quantification of TCA in cork granules, before and after treatment, was done by ECD (Electron Capture Detector) chromatography through direct injection or solid phase microextraction. The TCA analyzed is the releasable for a diluted solution of ethanol that mimics the wine or the total that results from the strong extraction of TCA present in the cork granules by means of an organic solvent.

The results obtained allowed to validate the effectiveness of the ROSA® system whose values of releasable TCA, in granules of 1 to 2 mm after treatment, were below the quantification limits of the analysis technology (0,5 ng/L).

In 3 to 7 mm granules, the sequential association of ROSA® with FBT showed a very high efficiency, allowing the obtainment of granules with lower TCA than the quantification limits of the chromatographic method used, mitigating the negative effects of increasing the density of granules associated with ROSA® treatment.

Índice

1.	Enquadramento e Objetivos	1
1.1.	A Amorim em Portugal.....	1
1.2.	Enquadramento	2
1.3.	Objetivos Propostos	2
2.	Introdução.....	3
2.1.	A Cortiça.....	3
2.1.1.	O sobreiro e a produção de cortiça	3
2.1.2.	A morfologia da cortiça	4
2.1.3.	Composição química da cortiça	5
2.2.	Rolhas de cortiça.....	7
2.2.1.	Rolhas naturais.....	7
2.2.2.	Rolhas aglomeradas	10
2.2.3.	Rolha <i>TwinTop</i> ®.....	11
2.3.	2,4,6 – Tricloroanisol (TCA)	12
2.3.1.	Rolhas de cortiça.....	12
2.3.2.	Transmissão do TCA na rolha de cortiça para o vinho.....	14
2.3.3.	Processos de remoção de TCA nas rolhas de cortiça.....	15
2.4.	Tratamentos e tecnologias de erradicação de TCA.....	16
2.4.1.	Tecnologia <i>Rate of Optimal Steam Application</i> (ROSA®)	16
2.4.2.	Tecnologia de leito fluidizado (FBT)	18
2.5.	Contextualização.....	18
3.	Material e Métodos.....	19
3.1.	Materiais e reagentes	19
3.2.	Métodos para a caracterização do granulado.....	19
3.3.	Quantificação de TCA libertável por micro-extração em fase sólida (SPME) acoplado a cromatografia em fase gasosa (GC).....	21
3.4.	Quantificação de TCA “Total”	24
3.5.	Validação do sistema ROSA® para a descontaminação de granulados de cortiça RN (1 a 2 mm) altamente contaminados.....	26
3.6.	Avaliação da eficácia do sistema ROSA® e FBT no tratamento de granulados RCT (3 a 7 mm) de cortiça altamente contaminados	27
4.	Apresentação e Discussão de Resultados.....	29

4.1. Validação do sistema ROSA® para a descontaminação de granulados de cortiça altamente contaminados	29
4.1.1. TCA libertável	29
4.1.2. TCA “total”	30
4.1.3. Massa Volúmica	31
4.1.4. Granulometria	31
4.1.5. Humidade	32
4.1.6. Conclusão	32
4.2. Avaliação da eficácia do sistema ROSA® e FBT no tratamento de granulados de cortiça altamente contaminados	34
4.2.1. TCA libertável	34
4.2.2. TCA “total”	35
4.2.3. Massa Volúmica	37
4.2.4. Granulometria	39
4.2.5. Humidade	40
4.2.6. Conclusão	41
5. Conclusão final	43
6. Trabalhos Realizados	44
7. Anexos	45
Anexo 1 - Material utilizado	45
Anexo 2 – Preparação de programação das retas de calibração	46
Anexo 2.1 - Para análise de TCA libertável	46
Anexo 2.2 - Para a análise de TCA total	47
Anexo 3 – Validação do sistema ROSA®	48
Anexo 3.1 – Valores de TCA libertável	48
Anexo 3.2 – Valores medidos da massa volúmica	49
Anexo 3.3 – Valores medidos da humidade	50
8. Bibliografia	51

Índice de tabelas

Tabela 1 - Composição química média da cortiça virgem ⁽¹⁾ e da cortiça amadia ⁽²⁾ 1. _____	6
Tabela 2 - Valores de TCA libertável no granulado após o sistema ROSA® (n=5). _____	29
Tabela 3 – Valores individuais de TCA libertável nas rolhas microaglomeradas (n=10). _	29
Tabela 4 - Valores de TCA total das rolhas microaglomeradas (n=5). _____	30
Tabela 5 – Massa volúmica média de todos os valores da massa volúmica, antes e após o sistema ROSA®. _____	31
Tabela 6 – Humidade média de todos os valores antes e após o sistema ROSA®. _____	32
Tabela 7 - Valores de TCA libertável ao longo do processo. Receção: n=5; Entrada do ROSA® e após o ROSA®: n=6; Receção MPS e após FBT: n=10, sendo n o número de amostras analisadas em cada etapa. _____	34
Tabela 8 - Valores de TCA “total” após o tratamento ROSA® e no final do processo (n=5). _____	36
Tabela 9 - Valores da subtração, em módulo, dos valores das massas volúmicas em cada etapa, sendo n o valor da etapa e n+1 o da etapa seguinte. _____	38
Tabela 10 - Diluições num balão de 100 ml com etanol a 96% a partir da solução 1. _____	46
Tabela 11 - Diluições num balão de 100 ml com etanol a 96% a partir da solução 1. _____	46
Tabela 12 - Quantidades e soluções para a preparação da reta de calibração. _____	47
Tabela 13 - Soluções padrão para a preparação da reta de calibração. _____	47
Tabela 14 - Valores de TCA libertável antes de ROSA (n=48). _____	48
Tabela 15 - Valores de massa volúmica medidas antes e após o sistema ROSA, corrigidas para 8% de humidade. _____	49
Tabela 16 - Valores medidos da humidade antes e depois do sistema ROSA®. _____	50

Índice de figuras

Figura 1 - Representação esquemática de uma secção axial do sobreiro; (A) cortiça (tecido de suberose), (B) cambio subero-felogénico, (C) feloderme, (D) líber, (E) cambio floema-madeira, (F) madeira, (G) casca, (H) canais lenticulares, (I) área de produção de rolhas, (J) anéis de crescimento anuais. ²	4
Figura 2 - (A) Representação esquemática da disposição das células de cortiça no tronco, definindo as três direções; (B) Fotografia de microscopia de varrimento de células de cortiça de reprodução. Corte tangencial que evidencia as células de cortiça enrugadas. ⁵	5
Figura 3 - Tipos de rolhas de cortiça. ²¹	7
Figura 4 - Esquema dos passos para o fabrico de rolhas naturais.	9
Figura 5 - Esquema dos passos para o fabrico de rolhas aglomeradas.	10
Figura 6 - Estrutura e fórmula química de compostos suscetíveis de provocar desvios sensoriais em vinhos, associados à cortiça.	13
Figura 7 - Esquema do sistema ROSA® para tratamento de granulados de cortiça. ²¹	16
Figura 8 - Granulados utilizados em ambos os estudos: A) granulado RN, calibre 1 a 2mm; B) granulado RCT, calibre 3 a 7mm.	19
Figura 9 - Peneira com agitador e as suas malhas.	20
Figura 10 – Higrómetro com godé utilizado para medir a humidade do granulado: A) godé; B) higrómetro.	21
Figura 11 - Procedimento da amostragem SPME.	22
Figura 12 - Rampa de temperaturas do cromatógrafo para a análise de TCA libertável. Possui três patamares de temperaturas: 90°C, 155°C e 265°C.	22
Figura 13 - Cromatograma de uma amostra a partir da análise de TCA libertável. A) Picos de TCA, padrão interno (TCA3) e outros compostos presentes no granulado; B) Pico de TCA; C) Pico de padrão interno.	23
Figura 14 - Injeção direta na coluna do cromatógrafo para análise de TCA total.	24
Figura 15 - Rampa de temperaturas na análise de TCA total.	25
Figura 16 - Cromatograma de uma amostra a partir da análise de TCA total. A) Picos de TCA, padrão interno e outros compostos presentes no granulado; B) Picos de TCA e padrão interno identificados (TCA3); C) Pico de TCA; D) Pico de padrão interno.	25
Figura 17 - Passos na validação do sistema ROSA®.	26
Figura 18 - Passos nos tratamentos ROSA® e FBT.	27
Figura 19 – Granulometria antes e após o sistema ROSA®.	31
Figura 20 – Valores de massa volúmica, em unidades SI, ao longo do processo.	37
Figura 21 - Granulometria em cada etapa do processo.	39
Figura 22 – Valores da humidade obtidos ao longo do processo.	40

Lista de abreviaturas

ECD – *Eletron Capture Detector*

ESA – *European Space Agency*

FBT – *Fluidized Bed Technology*

GC – *Gas Chromatography*

MPS – Unidade industrial Manuel Pereira de Sousa

NASA – *National Aeronautics and Space Administration*

PCA – Pentacloroanisol

ROSA – *Rate of Optimal Steam Application*

SPME – *Solid-phase Microextraction*

TBA - Tribromoanisol

TCA - Tricloroanisol

TeCA - Tetracloroanisol

1. Enquadramento e Objetivos

1.1. A Amorim em Portugal

A Corticeira Amorim iniciou a sua atividade em 1870 e é a maior empresa mundial de produtos de cortiça e uma das empresas portuguesas mais internacionalizadas, está cotada na bolsa e presente em mais de cem países em todos os continentes. É líder no setor da cortiça, com quase 150 anos, utilizando o grande potencial desta matéria-prima 100% natural em diferentes produtos, sempre com o cuidado de pensar nos problemas ambientais.



Com a conservação do montado de sobro, viabiliza a cortiça num equilíbrio económico, social e ambiental, o que fazem da Corticeira Amorim umas das empresas mais sustentáveis do mundo.

É o maior produtor e fornecedor de rolhas de cortiça a nível mundial, possuindo uma panóplia de diferentes rolhas para diferentes bebidas alcoólicas e assegurando sempre a sua excelência.

Como a Corticeira Amorim é uma empresa que desafia e pesquisa todas as opções do mercado, consegue ser também líder mundial na produção e distribuição de revestimentos de cortiça conhecidos pela sua resistência e confortabilidade.

Também desenvolve aglomerados compósitos que são utilizados para proteção das naves espaciais da NASA e da ESA, bem como transportes terrestres entre outras aplicações.

Também passa pelo negócio dos isolamentos aproveitando as características de isolamento térmico e acústico que a cortiça oferece.

Assim, a Corticeira Amorim tem uma gama de produtos naturais, obtidos a partir das pranchas de cortiça, das quais é feito o aproveitamento de todas as partes, inclusivamente do pó de cortiça que resulta da produção dos restantes produtos.

1.2. Enquadramento

Já existem tecnologias muito eficazes no tratamento de granulados de cortiça contaminados com TCA; contudo, a grande maioria das tecnologias, utilizadas pela empresa, possuem limitações no tratamento de granulados com elevada contaminação, ou seja, com quantidades de TCA acima de 10 ng/L. Além disso, as tecnologias utilizadas têm alguns efeitos colaterais nas propriedades físicas dos granulados, tais como o aumento da sua massa volúmica que conduzem a perdas de rentabilidade industrial.

1.3. Objetivos Propostos

O principal objetivo é a erradicação de TCA nos granulados de cortiça, através das tecnologias ROSA® e FBT. Pretendeu-se avaliar a eficácia daquelas tecnologias para remover TCA dos grânulos de cortiça, visando atingir valores de TCA após tratamento, inferiores a 0,50 ng/L, que é o limite de quantificação dos métodos cromatográficos usados. O impacto destas tecnologias não poderá afetar as características físico-mecânicas dos granulados, principalmente a sua massa volúmica ($< 10 \text{ kg/m}^3$).

2. Introdução

2.1. A Cortiça

2.1.1. O sobreiro e a produção de cortiça

O sobreiro é uma árvore de crescimento lento e de grande longevidade, que se desenvolve nas zonas mediterrânicas da Península Ibérica, Sul de França, parte de Itália e norte de África. Esta árvore pode atingir 250 a 300 anos mas apenas produz cortiça ao longo de 150 a 200 anos¹.

Ocupa atualmente uma área total de 2,3 milhões de hectares, dos quais 54% se encontram em Portugal e Espanha e 37% no norte de África. A Europa tem cerca de 60% da área de produção total e produz mais de 80% da cortiça mundialmente produzida. Portugal e Espanha detêm 54% e 23%, respetivamente, da produção total.^{1,2}

A cortiça é a casca do sobreiro (*Quercus suber L.*) que é periodicamente retirada do tronco, normalmente a cada 9-12 anos, sob a forma de pranchas com espessura adequada ao processamento industrial.^{1,2}

O sobreiro tem a capacidade de produzir tecido suberoso com diferentes características ao longo do seu crescimento. A cortiça virgem é a primeira cortiça produzida pelo sobreiro e é extraída quando a árvore atinge dimensões adequadas (70 cm de perímetro a 1,30 m do nível do solo) para o primeiro descortiçamento, designado por desbóia, o que normalmente ocorre entre 20 a 35 anos. Esta cortiça apresenta uma superfície muito irregular e por esta razão não é recomendável para o fabrico de rolhas, tendo como fim a trituração e produção de aglomerados. A cortiça da segunda tiradia, obtida 9 anos após a primeira, ainda não apresenta características para a produção de rolhas dada a sua irregularidade.

A cortiça amadia ou de reprodução, obtida 9 anos após a segunda tiradia e ao longo da restante vida da árvore, apresenta-se com uma camada de espessura uniforme, com poucas fraturas e de pequena profundidade. Esta cortiça, é a matéria-prima para a indústria das rolhas.¹⁻³

2.1.2. A morfologia da cortiça

A cortiça, designada pela botânica como felema, é uma camada protetora de células mortas de suberose produzida pelo felogénio, um tecido celular que está ativo ao longo do tempo de vida do sobreiro. O felogénio é a camada celular com capacidade de divisão celular, que produz o felema para o exterior e a feloderme para o interior do sobreiro (Figura 1).^{1,2}

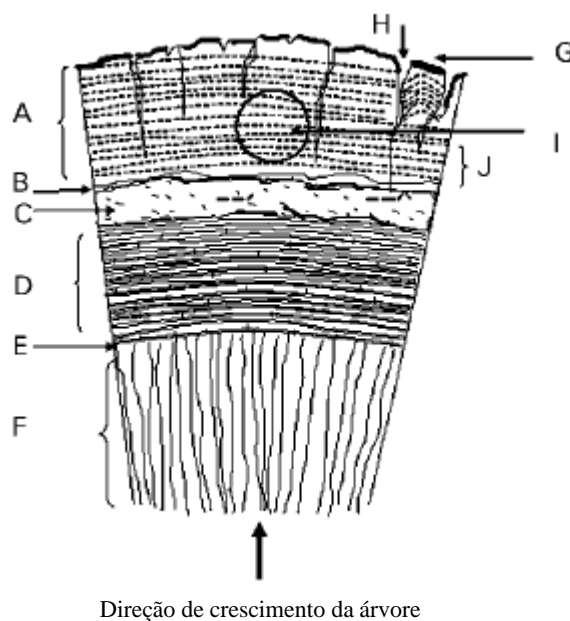


Figura 1 - Representação esquemática de uma secção axial do sobreiro; (A) cortiça (tecido de suberose), (B) cambio subero-felogénico, (C) feloderme, (D) líber, (E) cambio floema-madeira, (F) madeira, (G) casca, (H) canais lenticulares, (I) área de produção de rolhas, (J) anéis de crescimento anuais.²

A cortiça atua como uma barreira entre a atmosfera e o córtex do tronco sendo as lenticelas canais de transferência de massa para água e gases. Ao removê-la, a perda de água aumenta por causa da superfície exposta, o que pode induzir a uma diminuição da atividade estomática reduzindo a atividade biológica da árvore, e a morte dos tecidos internos da casca expostos com subsequente formação de uma periderme traumática. O crescimento da madeira também é afetado com a diminuição da largura dos anéis e uma anatomia alterada.

Inicialmente as células da cortiça estão colapsadas e enrugadas (Figura 2) e, para ser possível manipular a cortiça, as pranchas devem ser sujeitas a tratamentos com água quente para que estas fiquem mais flexíveis e para que expandam radialmente. Após a expansão, as pranchas ficam firmes e com uma estrutura celular mais uniforme. Posteriormente, as

pranchas são secas até 20% de humidade e devem possuir poucos defeitos e consistência na cor, textura e espessura, para que possam ser usadas na indústria de rolhas.^{1,2}

A cortiça pode ser descrita como um tecido homogéneo de células de paredes finas, regularmente arrançadas sem espaço intercelular. Revela também uma estrutura alveolar análoga a um favo de mel sem espaços vazios entre células contínuas e por essa razão são unidades fechadas (Figura 2).²

As células são como prismas retangulares empacotadas, base para base, em colunas paralelas à direção radial da árvore. A anisotropia da estrutura celular da cortiça implica que as suas propriedades também sejam anisotrópicas. As células da cortiça são fechadas e ocas, contendo no seu interior um gás que é ar.² Esta característica confere à cortiça leveza, elasticidade e baixa permeabilidade a líquidos e gases.⁴

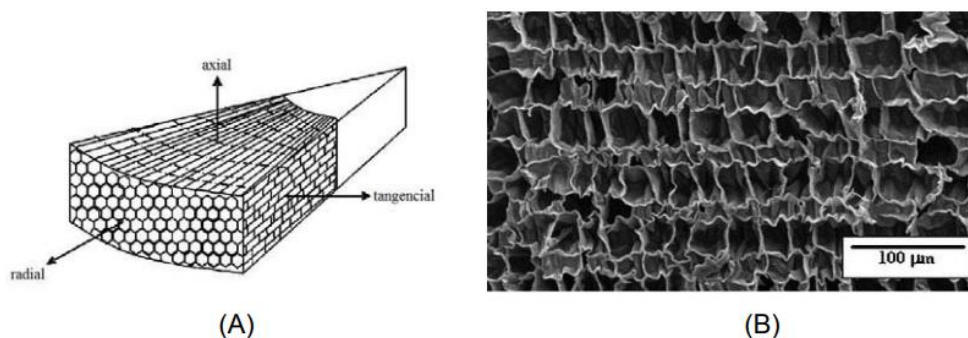


Figura 2 - (A) Representação esquemática da disposição das células de cortiça no tronco, definindo as três direções; (B) Fotografia de microscopia de varrimento de células de cortiça de reprodução. Corte tangencial que evidencia as células de cortiça enrugadas.⁵

2.1.3. Composição química da cortiça

A composição química da cortiça depende de fatores como a origem geográfica, clima e condições do solo, origem genética, dimensões da árvore, idade (virgem ou reprodução) e condições de crescimento.

A estrutura da parede celular da cortiça consiste numa lamela fina lenhificada, a parede primária interna, uma parede secundária espessa formada por lamelas de suberina e lenhina e uma parede terciária fina de polissacarídeos.²

Estes componentes estruturais da parede celular são de natureza macromolecular e insolúvel, que conferem às células a sua forma e grande parte das suas propriedades físicas

e químicas. A remoção de um componente estrutural da parede celular só é possível através de ataques químicos ou mecânicos com intensidade suficiente para promover a sua despolimerização parcial e solubilização, alterando as características e propriedades das células.¹

Os componentes não estruturais classificam-se em extrativos e inorgânicos. Os extrativos são compostos de massa molecular pequena, que são solúveis e podem ser retirados das células por solubilização com solventes de polaridade adequada, sem afetar de modo sensível as suas propriedades mecânicas.¹ Dos componentes da parede celular, a suberina, um bio polímero de caráter lipídico, é o mais abundante com, aproximadamente, 45% (m/m); a lenhina corresponde a 27% (m/m); polissacarídeos a 12% (m/m) e extratáveis a 16% (m/m), dentro destes 6% (m/m) de taninos, 6% (m/m) de ceroides e 4% (m/m) de cinzas. A suberina é um polímero com longas cadeias de álcoois alifáticos e monómeros de ácido o que lhe confere hidrofobicidade. Este composto juntamente com as ceras, também presentes em grande quantidade, concedem impermeabilidade e baixa absorção de água à cortiça.⁶ A suberina confere compressibilidade e elasticidade à cortiça; a lenhina constitui a parede celular; os polissacarídeos também são parte integrante da estrutura da cortiça; os ceroides têm a função de repelir a água e contribuem para a baixa permeabilidade da cortiça e, por fim, os taninos conferem proteção.^{1,3}

Tabela 1 - Composição química média da cortiça virgem⁽¹⁾ e da cortiça amadia⁽²⁾ ¹.

Componentes	% em peso seco	
	Cortiça Virgem	Cortiça Amadia
Suberina	35,2	39,4
Lenhina	22,4	24,0
Polissacarídeos	21,3	19,9
Extrativos	16,9	14,2
Inorgânico	0,9	1,2

⁽¹⁾ Cortiça obtida do primeiro descortiçamento utilizada em outras aplicações que não rolhas.

⁽²⁾ Cortiça obtida do terceiro descortiçamento e seguintes, utilizada para a produção de rolhas de qualidade.

Pela observação da Tabela 1, verifica-se que a suberina é o componente mais abundante na cortiça, embora da sua quantidade varie de sobreiro para sobreiro,

normalmente em maior quantidade na cortiça amadia que na cortiça virgem; a lenhina é superior na cortiça amadia que na cortiça virgem, e a extensão desta lenhificação confere rigidez às células de cortiça; a cortiça virgem e amadia contêm uma grande quantidade de componentes extratáveis, embora a cortiça amadia apresente menos ceras.

2.2. Rolhas de cortiça

A indústria de cortiça possui uma vasta gama de rolhas que diferem no calibre e formato, dependendo da finalidade a que estão destinadas. Podem agrupar-se em rolhas naturais e técnicas e dentro destas últimas dividem-se em rolhas de champanhe, rolhas *TwinTop*®, rolhas microaglomeradas *Neutrocork*® e rolhas aglomeradas. Para bebidas espirituosas, há ainda rolhas capsuladas (Figura 3).



Figura 3 - Tipos de rolhas de cortiça. ²¹

2.2.1. Rolhas naturais

O fabrico de rolhas de cortiça natural passa por várias fases após o descortiçamento (Figura 4). A cortiça vem em pranchas que são armazenadas durante 6 a 9 meses, o que vai contribuir para a diminuição de humidade e a oxidação de alguns compostos, especialmente os fenólicos. Esta é a fase da estabilização em estaleiro.⁷

O segundo passo é a cozedura das pranchas de cortiça amadia em água limpa e a ferver, que tem a duração de, pelo menos, uma hora. Os objetivos deste passo são: higienizar a cortiça; extrair as substâncias hidrossolúveis; aumentar a sua espessura para reduzir a densidade e tornar a cortiça mais macia e elástica.

As células da cortiça, antes da cozedura, estão comprimidas de forma irregular. A água a ferver faz com que o gás contido dentro das células expanda. A estrutura da cortiça fica mais regular e o seu volume aumenta cerca de 20%. Para além de melhorar a estrutura interna da cortiça, a cozedura contribui para a redução substancial da microflora aí presente.

Segue-se outro período de repouso e estabilização, durante 24 a 48h, para a posterior seleção das pranchas. A estabilização serve para aplanar as pranchas e permite que a cortiça atinja o teor de humidade ideal para o seu processamento, que é de cerca de 14%.

Os bordos e as arestas das pranchas são preparados e aparados para uma avaliação inicial e, posteriormente, são separadas por classes de qualidade com base na espessura, porosidade e aspeto. De seguida, as pranchas são cortadas em tiras com uma largura ligeiramente superior ao comprimento da rolha a fabricar. Esta fase é denominada de rabaneação.

As rolhas são fabricadas através da brocagem, que é um processo manual, semiautomático ou totalmente automático, que consiste em perfurar os traços de cortiça com uma broca. O traço após brocagem é granulado e constitui assim a matéria prima para a produção de rolhas técnicas ou outros produtos de cortiça aglomerada.

Como as rolhas não saem com uma superfície completamente regular, é necessário a sua retificação à superfície nas dimensões previamente especificadas.

As rolhas são escolhidas e separadas por classes diferenciadas, sendo que a determinação de cada classe é feita por controlo automático da superfície tendo em consideração a percentagem lenticelas ou poros. As rolhas encontradas com defeito estruturais são eliminadas.

Após a retificação e seleção das rolhas, procede-se à sua lavagem com água oxigenada, mas também podem ser utilizados outros métodos como o micro-ondas ou o ozono. Esta lavagem tem por objetivo alterar e uniformizar a cor da cortiça; contudo confere desinfeção às rolhas e paralelamente estabiliza a sua humidade.

As rolhas podem passar pela colmatagem que consiste em obturar os poros (lenticelas) da sua superfície com uma mistura de pó de cortiça (resultante da retificação das rolhas naturais) e cola de base aquosa.

Conforme as preferências do cliente, as rolhas são impressas com a marca desejada. Pode ser uma impressão a tinta de qualidade alimentar, marcação a fogo ou marcação a laser.

Seguidamente, a superfície da rolha é tratada com silicone ou parafina para facilitar a introdução e extração da rolha.

Por fim, as rolhas são embaladas em sacos de plásticos com anidrido sulfuroso (SO_2), que inibe o desenvolvimento microbiológico, e transportadas até ao cliente.⁸

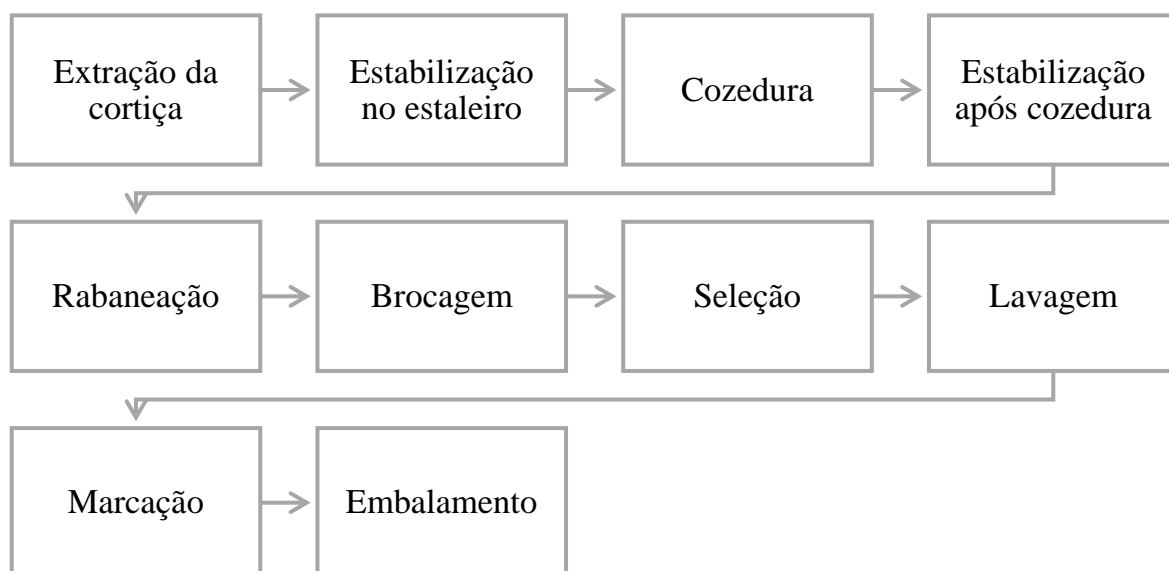


Figura 4 - Esquema dos passos para o fabrico de rolhas naturais.

2.2.2. Rolhas aglomeradas

Estas rolhas são inteiramente formadas a partir de granulados de cortiça de boa qualidade proveniente dos subprodutos resultantes da produção de rolhas naturais. Devem apresentar um intervalo granulométrico pequeno, de forma a que os diferentes grânulos apresentem características similares, em termos de densidade e outras características físico-mecânicas. Assim, evita-se a estratificação do aglomerado.^{1,9}

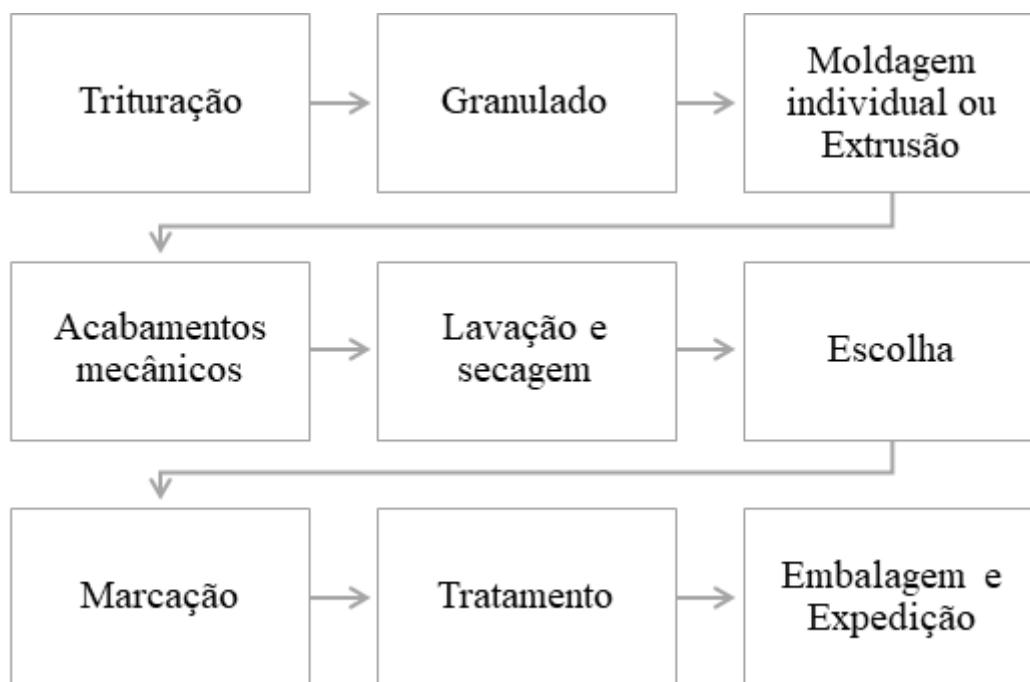


Figura 5 - Esquema dos passos para o fabrico de rolhas aglomeradas.

As rolhas aglomeradas podem ser fabricadas por moldagem individual ou por extrusão, aglutinadas por uma cola aprovada para produtos alimentares (Figura 5). Estas são o resultado de um processo altamente industrializado, onde as categorias são definidas com base no calibre do grânulo de cortiça e densidade final do produto.⁹

Em relação às rolhas de cortiça natural, as rolhas aglomeradas apresentam maior uniformidade de propriedades o que é uma grande vantagem. No entanto, apresentam uma densidade e uma resistência mecânica superior à da cortiça natural e são usadas para vinhos com curto estágio em garrafa.

➤ **Rolhas *Neutrocork*®**

As rolhas microaglomeradas têm o mesmo processo de fabrico e aglomeração que as rolhas aglomeradas. No entanto, são utilizados grânulos de menor dimensão (1 a 2 mm) que os das rolhas aglomeradas (2 a 3 mm ou 3 a 7 mm). Com isto, a rolha tem melhor comportamento físico, químico e enológico.

2.2.3. Rolha *TwinTop*®

O processo de fabrico das rolhas técnica passa por três fases distintas:

- A produção de discos de cortiça natural que são colocados nos topos;
- Fabricação do corpo de cortiça aglomerada;
- Montagem da rolha.

No fabrico dos discos de cortiça natural, as pranchas utilizadas são previamente tratadas segundo processos anteriormente descritos. De seguida, as pranchas são cortadas entre a parte mais rugosa da prancha e a parte que está mais junto ao tronco, de modo a obter lâminas de cortiça macias e uniformes com cerca de 6,5 mm de espessura. Estas lâminas são perfuradas mecanicamente em círculos do tamanho do topo da rolha que se pretende, e seguem para uma seleção ótica para os dividir em classes pré-estabelecidas. Por fim, são novamente lavados com sistemas próprios que inclui água purificada, aquecida a cerca de 70°C e sem cloro. Posteriormente, os discos são secos e armazenados em silos.

A rolha técnica possui um corpo formado por grânulos provenientes dos subprodutos no fabrico de rolhas naturais. Estes subprodutos passam por máquinas de trituração onde se obtêm grânulos com granulometrias diferentes. Seguidamente, estes grânulos são aglomerados com uma cola de poliuretano de grau alimentar e são moldados e cortados nas dimensões das rolhas desejadas.¹⁰

Os discos são então colados nos topos do corpo aglomerado com uma cola aprovada para estar em contato com alimento. As rolhas técnicas com um disco em cada topo são designadas rolhas técnicas 1+1¹¹, que têm, na Amorim & Irmãos, a designação da *TwinTop*®. Posteriormente, a rolha já montada é sujeita a uma secagem para se certificar que a cola está completamente seca e segue para a fase de polimento ou retificação, tal como

nas rolhas naturais. Os processos seguintes são os mesmos que na produção de rolhas naturais, desde o processo de lavagem até ao embalamento.¹⁰

Estas rolhas são concebidas para um engarrafamento entre 2 a 5 anos.¹¹

➤ Rolhas de champanhe

O fabrico das rolhas de champanhe vai ao encontro das rolhas técnicas. Estas rolhas possuem um corpo aglomerado e é aplicado um ou dois discos na extremidade que entra em contato com o vinho. Estas rolhas têm um diâmetro superior às restantes visto terem de suportar pressões elevadas. As rolhas de champanhe são sujeitas a uma fabricação minuciosa e um controlo de qualidade rigoroso para obter os requisitos físicos, químicos e microbiológicos pretendidos.^{7,12}

2.3. 2,4,6 – Tricloroanisol (TCA)

2.3.1. Rolhas de cortiça

As rolhas de cortiça têm sido usadas como vedantes das garrafas de vinho pelas suas propriedades físicas de impermeabilidade a líquidos e ar, que previne a oxidação do vinho, compressibilidade e resiliência. No entanto, a qualidade do vinho pode ser afetada pela migração de certos componentes após o fecho da garrafa.¹³ Um dos principais compostos que interfere com as propriedades do vinho é o 2,4,6-tricloroanisol (TCA). Outros haloanisóis também têm sido referenciados: o pentacloroanisol (PCA), o 2,3,4,6-tetracloroanisol (TeCA) e o 2,4,6-tribromoanisol (TBA) (Figura 6).

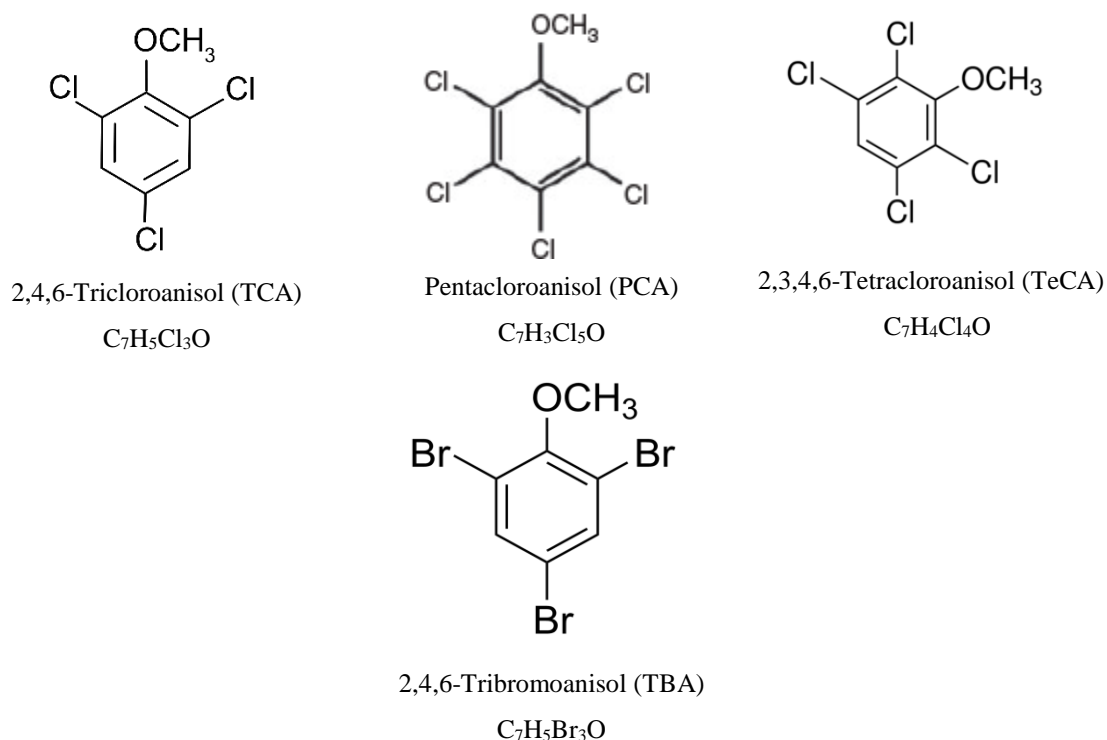


Figura 6 - Estrutura e fórmula química de compostos suscetíveis de provocar desvios sensoriais em vinhos, associados à cortiça.

A migração destes compostos da rolha de cortiça para o vinho é responsável por conferir um sabor anormal e um odor a mofo, bolor ou bafio ao vinho. Destes componentes, o TCA é o que tem o limiar de deteção mais baixo (5 ng L^{-1} no vinho) e tem a capacidade de migrar da rolha para o vinho. Estima-se que entre 80 a 85% dos vinhos cuja contaminação tem origem na cortiça é por TCA.¹³⁻¹⁵

Os cloroanisóis são formados da O-metilação de clorofenóis, como um método de desintoxicação, por diferentes microrganismos, especialmente fungos, em condições específicas de temperatura e humidade. Também a cloração dos produtos de degradação da lenhina na presença de cloro livre ou espécies aniónicas que contêm cloro produz os diferentes clorofenóis.^{13,16}

Os clorofenóis estão frequentemente presentes devido ao embalamento, aos fungicidas, herbicidas ou preservativos da madeira usados pelos fabricantes. O uso destes biocidas com clorofenóis na sua constituição fez com que estes se tenham acumulado nas reservas de água e em solos, contaminando o sobreiro. Outros dois processos que levam à formação de clorofenóis na cortiça são a ebulição das pranchas de cortiça com água que

contém cloro e o branqueamento utilizando hipoclorito. O primeiro passo para o fabrico de rolhas é a cozedura onde a microflora presente na cortiça é praticamente destruída. No entanto, a microflora proveniente da indústria, como por exemplo o mofo, pode crescer nas pranchas durante a secagem. Já na fase de produção de rolhas, a cortiça era tratada com uma solução de hipoclorito e cálcio para branquear a superfície das rolhas, de modo a melhorar a aparência. Fruto deste procedimento, níveis altos de pentaclorofenol (PCP) eram produzidos nas rolhas, o que podia levar à formação de TCA na presença de microflora proveniente da cortiça por isso, este tratamento foi eliminado.^{16,17}

Devido à facilidade de formação de TCA, a cortiça é cuidadosamente selecionada antes de ser processada, a contaminação microbiana é controlada durante as diferentes etapas do processo produtivo e, com as rolhas finalizadas para venda aos produtores de vinho, são submetidas a várias medições de controlo: densidade, humidade, impermeabilidade a gases e líquidos e testes microbiológicos.¹⁵

2.3.2. Transmissão do TCA na rolha de cortiça para o vinho

A transmissão da contaminação da rolha de cortiça para o vinho depende de vários fatores:

- A solubilidade dos compostos contaminantes no vinho;
- A localização dos compostos contaminantes na superfície e no interior da rolha;
- A velocidade da migração para o vinho;
- O volume de vinho em contato com a rolha.

TCA libertável é o TCA que está presente na superfície da rolha, perto desta ou nas lenticelas e é rapidamente libertado para o vinho. Este TCA atinge o equilíbrio com o vinho ao fim de 24 a 48 horas. A difusão do TCA pela matriz da rolha é um processo muito lento. Este fenómeno depende fortemente da localização do TCA. No geral, após o engarrafamento e durante a maturação e conservação do vinho, cerca de 50% do TCA presente na rolha de cortiça pode migrar para o vinho ao longo de 14 meses.¹⁴

No caso dos vinhos, a variabilidade da concentração de TCA pode estar associada às diferenças entre as rolhas de cortiça e as diferentes propriedades de migração de cada uma. Já na migração de TCA, a variação pode ocorrer pelo pequeno contato da área superficial entre a rolha e o vinho. Nas garrafas de vinho somente a parte inferior da rolha está em

contato com o vinho. Como a concentração de TCA não é homogeneamente distribuída por toda a rolha, é possível que se encontrem rolhas com grandes concentrações de TCA, mas uma pequena concentração deste composto no vinho engarrafado com esta rolha.^{13,15}

2.3.3. Processos de remoção de TCA nas rolhas de cortiça

É difícil estudar cada um dos compostos voláteis com aroma defeituoso. Por isso, usa-se o TCA como um marcador, por estar geralmente presente sempre que os outros compostos também estão. O TCA é um composto muito difícil de ser removido devido à sua fraca volatilidade (ponto de ebulição de 240°C) e às características estruturais e físico-químicas intrínsecas da cortiça.¹⁸

Os tratamentos de eliminação do TCA conhecidos utilizam diferentes processos químicos, físicos, físico-químicos e biológicos. Estes métodos têm duas vertentes para a remoção do composto: a eliminação das causas, tais como eliminação de microrganismos presentes e a presença de agentes clorados, e a ação direta sobre os níveis de TCA presentes na cortiça. Estes processos removem o TCA presente nas rolhas de cortiça, mas, somente, o que está localizado perto ou na superfície da rolha.^{14,18} Existem processos de desodorização por extração/lavagem utilizando diferentes solventes e com um pequeno aumento de temperatura; processos de esterilização com radiação de modo a prevenir a conversão do 2,4,6-triclorofenol em 2,4,6-tricloroanisol através dos microrganismos por biometilação; ou processos de lavagem a vapor como o tratamento ROSA®, explicado mais adiante. A extração com CO₂ em estado supercrítico tem uma elevada eficiência; contudo, a sua aplicação está restrita a grânulos de cortiça uma vez que degrada as propriedades físico-mecânicas das rolhas naturais. Outras técnicas para diminuir a contaminação com TCA inclui tratamento utilizando micro-ondas, o uso de enzimas e o uso de barreiras físicas para cobrir as extremidades da rolha.¹⁸⁻²⁰

Estes processos têm desvantagens associadas a cada um deles: os processos de extração são muito pouco eficientes devido à impermeabilidade que a cortiça possui a líquidos e a gases; a extração com alguns solventes orgânicos tem riscos para o consumidor e o meio ambiente; a cobertura da rolha com uma camada de polímero pode modificar as propriedades físicas e mecânicas da rolha bem como haver passagem de contaminantes do

polímero para o meio líquido; a esterilização não tem influência na redução das quantidades de TCA, somente sobre os microrganismo, entre outros.¹⁸

2.4. Tratamentos e tecnologias de erradicação de TCA

2.4.1. Tecnologia *Rate of Optimal Steam Application* (ROSA®)

A tecnologia ROSA® tem como objetivo reduzir compostos com aromas desagradáveis, particularmente TCA, em produtos de cortiça, tais como granulados, discos e rolhas de cortiça, para que a cortiça não seja a responsável pela contaminação do vinho.

Este sistema é baseado na aplicação de vapor de água em granulados de cortiça, discos e rolhas, a temperatura e humidade constantes, de modo a eliminar todos os compostos que são arrastados pelo vapor de água, nomeadamente TCA. Assim, a cortiça fica sensorialmente neutra, mantendo as propriedades físico-químicas.

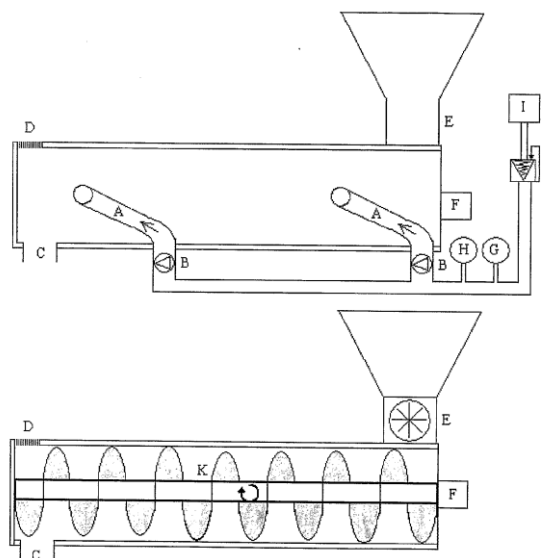


Figura 7 - Esquema do sistema ROSA® para tratamento de granulados de cortiça.²¹

O sistema trabalha a uma temperatura entre 100°C-125°C, uma pressão de 0,2 a 0,8 bar com um tempo de contacto de 6 a 65 minutos e dependendo a velocidade de rotação do tempo de contacto. Este processo trabalha em contínuo.

Observando a Figura 7, o sistema ROSA® é constituído por um cilindro em aço inox e possui quatro aberturas laterais (A) destinadas à entrada de vapor de água proveniente de

uma fonte geradora (I), que possui torneiras reguladoras da entrada (B); na parte inferior (C) possui uma entrada destinada à recolha do granulado após o tratamento; uma abertura situada na parte superior (D) para a exaustão do vapor de água após o tratamento. No sistema, o fluxo de vapor de água é regulado por uma válvula controladora de pressão (J). Existem também um manómetro (G) e um controlador de temperatura (H). O interior do cilindro contém uma hélice (K) movida por um motor (F), que faz com que a hélice tenha um movimento rotativo no centro do cilindro.

Nos granulados de cortiça, a redução da quantidade de TCA é na ordem dos 90 a 95%, em média, não afetando as propriedades mecânicas dos grânulos. A tecnologia ROSA® possui uma elevada eficiência na redução da contaminação em granulados. Este tratamento provoca uma redução significativa da humidade e da massa volúmica o que faz com que tenha de ser corrigida posteriormente.^{19,20}

A partir desta tecnologia foram feitos melhoramentos que originaram, primeiramente, o ROSA® *Evolution* e, consequentemente, o Super ROSA®.

O ROSA® *Evolution* é utilizado no tratamento de rolhas de cortiça natural. É um tratamento com vapor de água durante 2 a 3h, a uma temperatura de 70°C e com uma humidade relativa entre os 60 a 70%. Este tratamento atinge uma eficácia entre 75 a 80%.

O Super ROSA®, também utilizado em rolhas de cortiça natural, possui câmaras para 1 a 1,5 milhão de rolhas que são tratadas com vapor de água. Este tratamento tem ciclos de 60h e atinge uma eficácia de 85%.

2.4.2. Tecnologia de leito fluidizado (FBT)

O FBT consiste num reator *batch* que tem um sistema de aquecimento do vapor de água. O granulado entra no reator e, depois da temperatura atingir os 60°C, o vapor de água entra na parte inferior do reator. A entrada do vapor de água faz com que os grânulos fiquem em suspensão durante 30 minutos. Assim o vapor de água passa por todo o grânulo fazendo com que a área de superfície de tratamento seja superior àquela tratada no ROSA®. De seguida, o reator arrefece e o granulado é extraído.

Ao contrário do ROSA®, esta tecnologia não tem grande influência na massa volúmica do granulado.

2.5. Contextualização

As tecnologias ROSA® e FBT, que são objetos de estudo neste trabalho, individualmente, são eficientes na erradicação do TCA em granulados pouco contaminados. Para isso, estudou-se a eficácia dos sistemas na erradicação de TCA em granulados com elevada contaminação. Inicialmente, validou-se o atual tratamento ROSA®, que, afeta negativamente as propriedades físico-químicas dos grânulos no que diz respeito à humidade e massa volúmica. Seguidamente, avaliou-se o sistema ROSA® em sequência com a tecnologia FBT uma vez que possuem elevada eficácia, individualmente, na erradicação de TCA em granulados e o FBT mitiga o aumento da humidade e da massa volúmica nos granulados.

3. Material e Métodos

3.1. Materiais e reagentes

Os materiais, reagentes e equipamentos utilizados estão descritos no Anexo 1.

Na Figura 8 estão apresentados os granulados RN (A) e RCT (B) utilizados nos estudos.



Figura 8 - Granulados utilizados em ambos os estudos: A) granulado RN, calibre 1 a 2mm; B) granulado RCT, calibre 3 a 7mm.

3.2. Métodos para a caracterização do granulado

A caracterização do granulado inclui a medição da massa volúmica, granulometria e humidade.

➤ Massa volúmica

A massa volúmica foi medida com a ajuda de um cubo com um volume de 1dm^3 e uma balança, unidade em gramas. Previamente, o cubo foi tarado, encheu-se com o granulado e pesou-se.

➤ Granulometria

Com a granulometria determina-se a percentagem de grânulos em cada tamanho. Para isso usou-se uma peneira com agitador que possui várias malhas (Figura 9).



Figura 9 - Peneira com agitador e as suas malhas.

As malhas são pratos sobrepostos com orifícios, cada prato com um determinado tamanho do orifício. Inicia-se com a malha de maior tamanho até ao menor tamanho, neste caso o tamanho de um grão de pó.

Cerca de 100 g de granulado, cuja granulometria se pretende determinar, é colocado no primeiro prato da máquina, o que tem a malha de maior abertura, após o que a máquina é ligada a agitar com uma amplitude de 1,5 durante 10 min. A quantidade de granulado de cada prato é pesada individualmente.

➤ **Humidade**

A humidade é uma característica importante, pois a aglomeração do granulado, nomeadamente a reticulação da cola, depende da quantidade de água existente no granulado.

Utilizou-se um medidor de humidade constituído por um higrómetro (B) e um godé (A) como se pode observar na Figura 10.

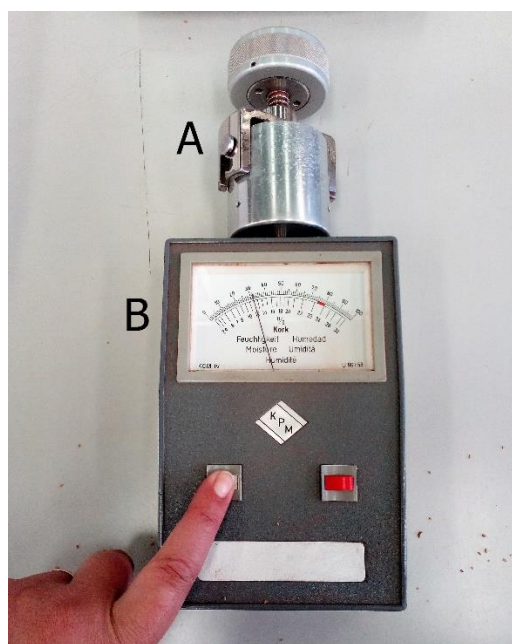


Figura 10 – Higrómetro com godé utilizado para medir a humidade do granulado: A) godé; B) higrómetro.

Após enchimento do godé é medida a humidade através do higrómetro acoplado ao sistema.

3.3. Quantificação de TCA libertável por micro-extração em fase sólida (SPME) acoplado a cromatografia em fase gasosa (GC)

➤ Preparação das amostras

O TCA libertável é o TCA que está presente na superfície do granulado de cortiça e que se liberta facilmente. De modo a analisar o TCA libertável presente na cortiça utilizou-se um método desenvolvido pela Amorim & Irmãos. Numa primeira fase faz-se uma maceração de 25g de granulado em solução hidroalcoólica a 12%, colocada num frasco hermético de vidro. Em seguida, a maceração permaneceu 50 minutos na estufa a 30°C após o que são pipetados 10mL do líquido para o tubo de cromatografia de 20mL com ± 3 g de NaCl. O sal serve para forçar a passagem do TCA para a fase gasosa de modo a favorecer a sua extração. Adicionou-se também 100 μ L de padrão interno 2,3,6-tricloroanisol para a quantificação de TCA presente na amostra.

➤ Análise cromatográfica

A análise por cromatografia em fase gasosa é efetuada sem modificação da matriz líquida onde há uma micro-extração em fase sólida por exposição no *headspace* (SPME) com a ajuda de uma fibra utilizada para absorver compostos voláteis. Na Figura 11 estão os três passos que ocorrem na SPME.

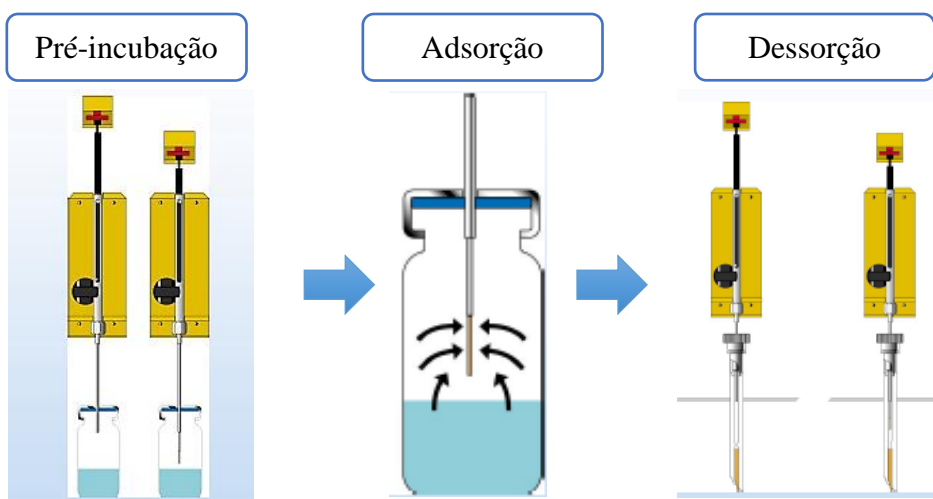


Figura 11 - Procedimento da amostragem SPME.

O *headspace* permite a extração dos compostos voláteis presentes no líquido retirado da maceração. Após a pré-incubação de 2 minutos da amostra, a fibra de polidimetilsiloxano (PDMS) foi exposta no *headspace* do tubo de cromatografia durante 8 minutos, a 50°C com agitação. O TCA presente no *headspace* foi adsorvido e termicamente desorvido da fibra para o injetor do cromatógrafo, a 265°C. Esta injeção é feita em modo *splitless*. A fibra permaneceu no injetor durante 4 minutos. A análise de cada amostra demora cerca de 13 minutos (Figura 12).

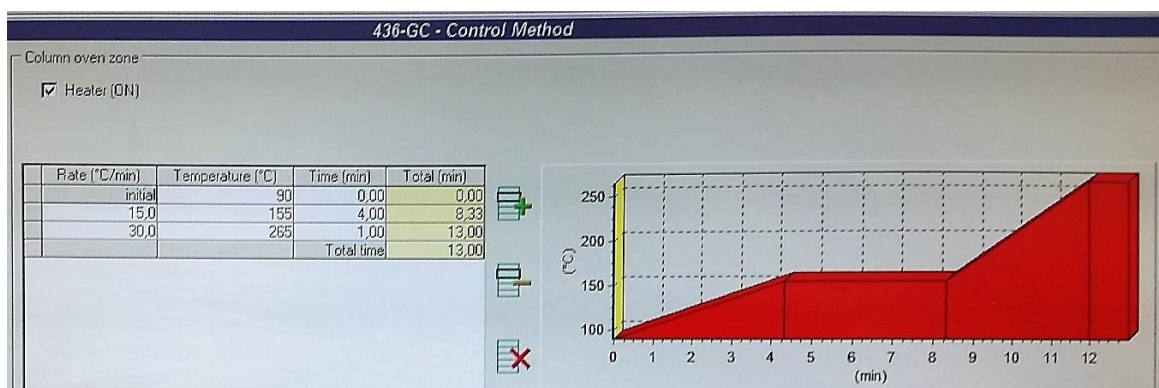


Figura 12 - Rampa de temperaturas do cromatógrafo para a análise de TCA libertável. Possui três patamares de temperaturas: 90°C, 155°C e 265°C.

A detecção e quantificação (Figura 13) foi feita por captura eletrônica (ECD) utilizando calibração externa do método cuja explicação se encontra representada no Anexo 2 – 2.1.

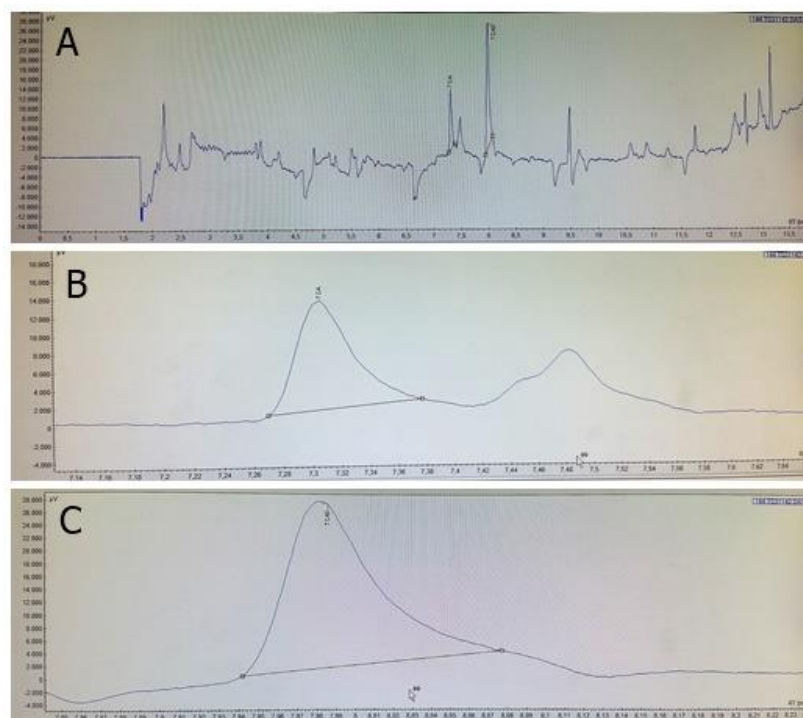


Figura 13 - Cromatograma de uma amostra a partir da análise de TCA libertável. A) Picos de TCA, padrão interno (TCA3) e outros compostos presentes no granulado; B) Pico de TCA; C) Pico de padrão interno.

3.4. Quantificação de TCA “Total”

➤ Preparação das amostras

O TCA “total” é o TCA presente em todo o grânulo de cortiça que se poderá libertar para uma solução de maceração. Colocou-se o granulado num matraz de 100mL. De seguida, pipetou-se 30mL de cicloexano para o matraz e colocou-se a agitar num agitador elétrico a 250rpm durante 50 minutos. Após este tempo, pipetou-se 10mL para um tubo de cromatografia ao qual são adicionados 200 μ L de padrão interno 2,3,6-tricloroanisol em cicloexano.

➤ Análise cromatográfica por injeção direta

Ao contrário da análise cromatográfica de TCA libertável, não há absorção e desorção gasosa pois a injeção é líquida e feita diretamente na coluna (Figura 14). Do tubo de cromatografia, são retirados 2 μ L da amostra que são injetados na coluna capilar apolar onde a deteção é feita por captura eletrónica.

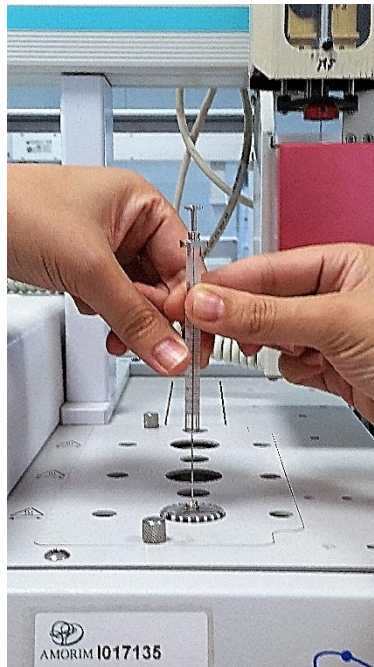


Figura 14 - Injeção direta na coluna do cromatógrafo para análise de TCA total.

Ao contrário da análise de TCA libertável, não há tempo de pré-incubação porque a injeção é direta na coluna. Na Figura 15 verifica-se que há somente dois patamares de temperatura, onde há um constante aumento até aos 205°C e nos últimos minutos da análise atinge os 280°C.

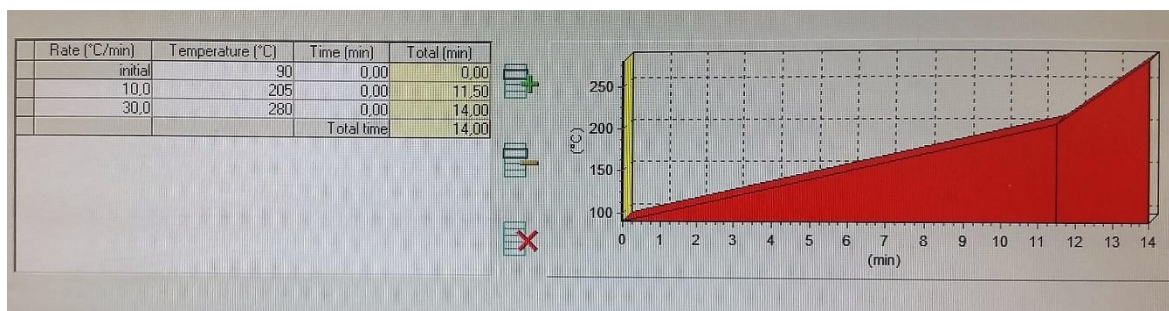


Figura 15 - Rampa de temperaturas na análise de TCA total.

O resultado obtido é extrapolado de uma curva de calibração previamente feita conforme está explicado no Anexo 2 – 2.2.

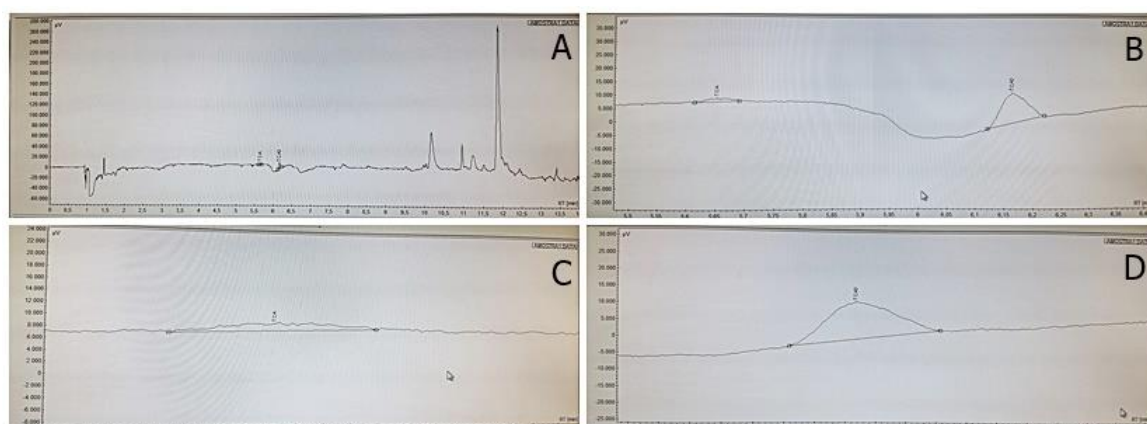


Figura 16 - Cromatograma de uma amostra a partir da análise de TCA total. A) Picos de TCA, padrão interno e outros compostos presentes no granulado; B) Picos de TCA e padrão interno identificados (TCA3); C) Pico de TCA; D) Pico de padrão interno.

Na Figura 16 observa-se o cromatograma obtido da análise de TCA total que é diferente do obtido na Figura 13. No entanto, a leitura do cromatograma é igual.

O TCA “total” vem expresso em ng/rolha.

3.5. Validação do sistema ROSA® para a descontaminação de granulados de cortiça RN (1 a 2 mm) altamente contaminados

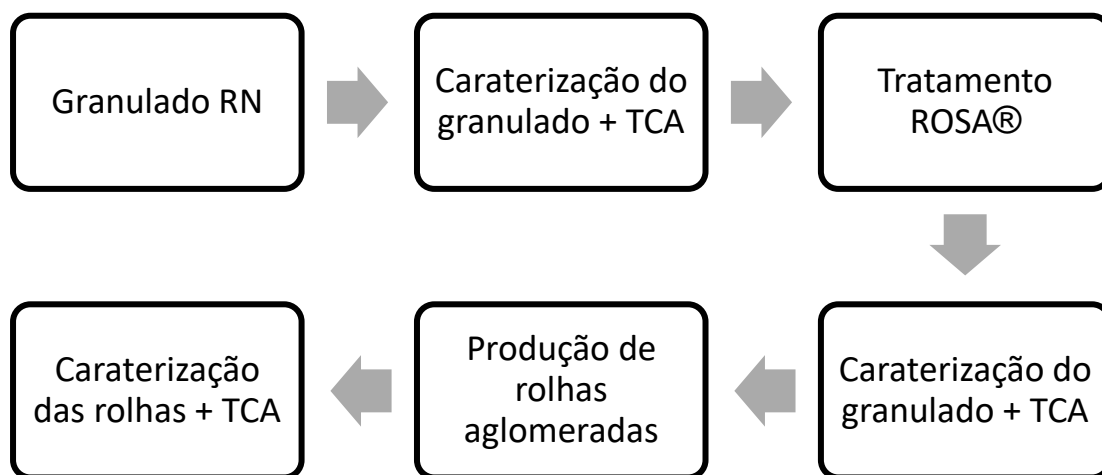


Figura 17 - Passos na validação do sistema ROSA®.

Neste estudo (Figura 17) foi utilizado o granulado fino RN de calibre 1 a 2 mm. O granulado possuía uma contaminação elevada, acima de 15 ng/L e foi tratado pelo sistema ROSA® pertencente à unidade *De Sousa*. Após o tratamento, seguiu para a moldação onde foram produzidas rolhas aglomeradas.

A massa volúmica, granulometria e humidade foram medidas e, no início e fim do processo, foi feita a análise de TCA libertável do granulado. Após o ROSA®, o TCA “total” das rolhas aglomeradas também foi quantificado.

3.6. Avaliação da eficácia do sistema ROSA® e FBT no tratamento de granulados RCT (3 a 7 mm) de cortiça altamente contaminados

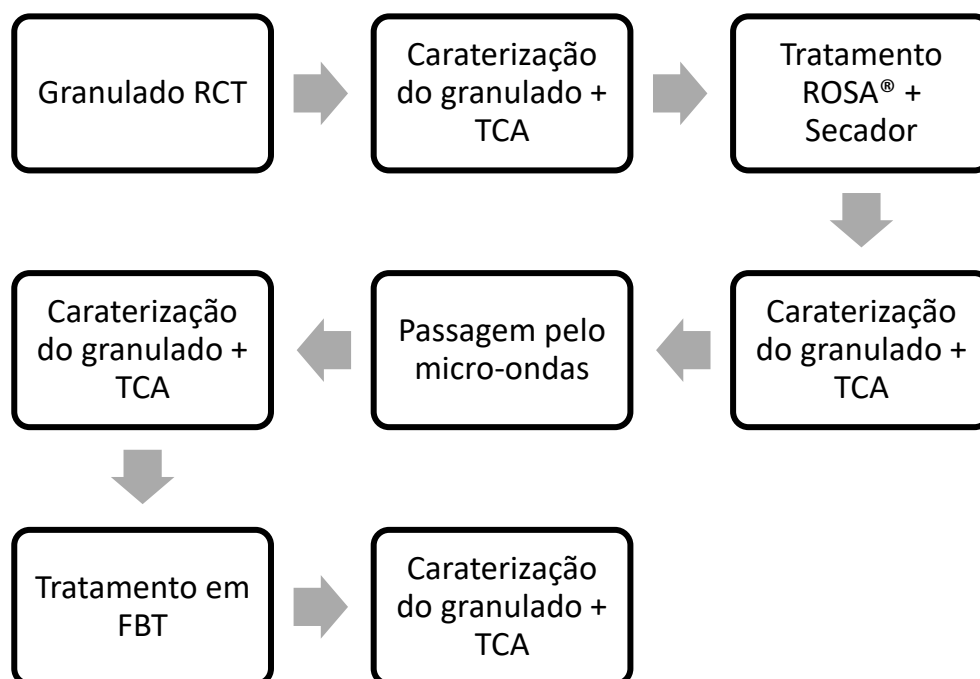


Figura 18 - Passos nos tratamentos ROSA® e FBT.

O granulado utilizado neste estudo foi RCT que possui um calibre de 3 a 7 mm. Este granulado, tal como o do estudo anterior, possuía também elevada contaminação.

Primeiramente, o granulado passou pelo ROSA® e pelo secador na unidade industrial *Equipar*. Também sofreu a ação do micro-ondas de forma a recuperar a massa volúmica aumentada durante o tratamento ROSA®. Por fim, o granulado foi transportado para a unidade industrial *De Sousa* onde foi tratado no sistema FBT (Figura 18).

A caraterização do granulado incluiu a medição da humidade, massa volúmica, granulometria e também a quantidade de TCA libertável presente em todas as etapas. Após o ROSA® + FBT, o TCA “total” das rolhas aglomeradas também foi quantificado.

4. Apresentação e Discussão de Resultados

4.1. Validação do sistema ROSA® para a descontaminação de granulados de cortiça altamente contaminados

O granulado RN (1 a 2mm) altamente contaminado foi sujeito ao sistema ROSA® na unidade *De Sousa* (MPS).

Para a validação do tratamento, e fez-se a medição da massa volúmica, granulometria, humidade.

4.1.1. TCA libertável

Antes do tratamento, os valores de TCA libertável analisados em 48 amostras apresentaram em média de $7,28 \pm 1,87$ ng/L. Os valores individuais encontram-se no Anexo 3 – 3.1, Tabela 14.

Após o sistema ROSA®, o TCA libertável do granulado foi de 0,8 ng/L (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores de TCA libertável no granulado após o sistema ROSA® (n=5).

Amostra	1	2	3	4	5	Média	DP	Max	Min
TCA libertável (ng/L)	1,00	0,40	1,10	0,80	0,30	0,80	0,36	1,10	0,30

A redução de TCA libertável foi cerca de 89,01%. Apesar do elevado rendimento de remoção de TCA, o granulado após tratamento ainda contém uma contaminação que está claramente acima dos limites de quantificação e deteção do método de análise, 0,5 e 0,2 ng/L respetivamente.

Posteriormente, com o granulado, foram fabricadas rolhas microaglomeradas seguindo o processo descrito no ponto 3.2.2.

Tabela 3 – Valores individuais de TCA libertável nas rolhas microaglomeradas (n=10).

Amostra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média	DP	Max	Min
TCA libertável (ng/L)	0,26	0,28	0,27	0,17	0,21	0,18	0,07	0,00	0,13	0,36	0,18	0,11	0,36	0,0

Nas rolhas microaglomeradas, o TCA libertável encontra-se 100% abaixo dos 0,50 ng/L que é o limite de quantificação do método de análise (Tabela 3). Isto indica que mesmo que o granulado constituinte da rolha tenha TCA residual, este irá ser parcialmente removido nas operações de produção de rolhas posteriores ao tratamento ROSA®, em particular, nas etapas onde os granulados sofrem algum tipo de tratamento térmico tal como, por exemplo, na operação de moldação.

4.1.2. TCA “total”

Além do TCA libertável, também o TCA “total” foi analisado nas rolhas microaglomeradas fabricadas com o granulado após o sistema ROSA®. Os valores encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de TCA total das rolhas microaglomeradas (n=5).

Amostra	1	2	3	4	5	Média	DP	Max	Min
TCA “total” (ng/g rolha)	1,19	1,16	1,12	1,80	1,18	1,18	0,03	1,19	1,12
TCA “total” (ng/rolha)	6,35	6,18	6,06	6,40	6,42	6,28	0,16	6,42	6,06

Os valores obtidos apresentam-se acima dos 6,0 ng/rolha, limite para que não haja libertação de TCA para o vinho, aquando da lixiviação presente na rolha de cortiça em garrafa. De facto, o TCA “total”, como se pode ver por estes resultados, não é exatamente todo o TCA existente nos grânulos de cortiça, mas sim aquele que nas condições fortes de extração é passível de ser extraído para um solvente orgânico com bem maior capacidade de extração que a solução etanólica a 12%. Esta tenta mimetizar o que se passa numa garrafa de vinho.

4.1.3. Massa Volúmica

No Anexo 3 – 3.2 encontra-se a Tabela 15 com os valores de massa volúmica dos granulados antes e após tratamento.

Antes do tratamento no sistema ROSA®, os valores de massa volúmica dos grânulos estavam compreendidos entre 57,86 e 62,81 kg/m³. Estes valores aumentaram para 67,05 e 70,30 kg/m³ respetivamente, após o tratamento. Em média (Tabela 5), houve um acréscimo de 8,44 kg/m³ na massa volúmica devido às temperaturas altas e ao vapor de água utilizado nesta tecnologia.

Tabela 5 – Massa volúmica média de todos os valores da massa volúmica, antes e após o sistema ROSA®.

	Antes do sistema ROSA®	Após o sistema ROSA®
Massa volúmica média (kg/m³)	60,21	68,64
Desvio Padrão	1,31	1,13

4.1.4. Granulometria

Na Figura 19 observa-se a distribuição granulométrica antes e após o sistema ROSA®.

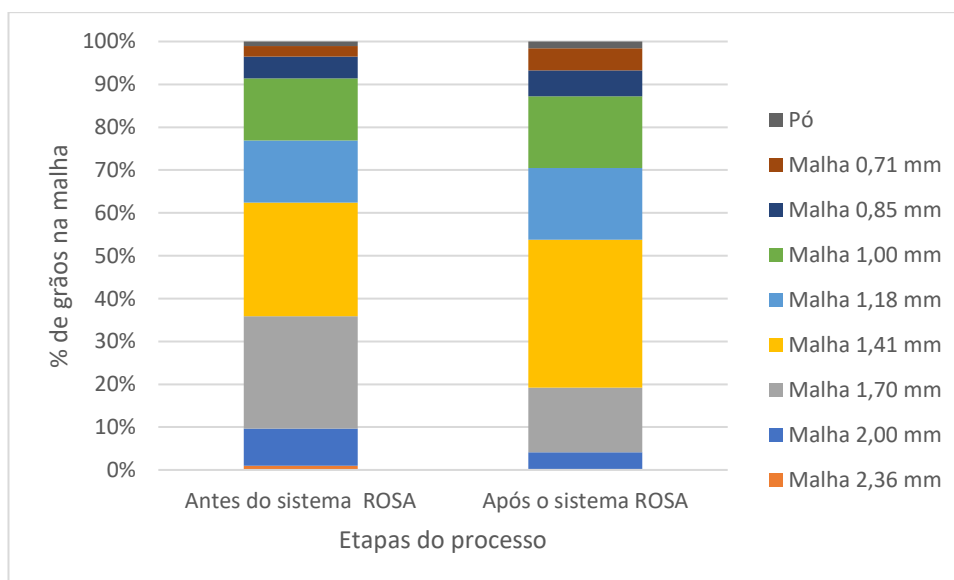


Figura 19 – Granulometria antes e após o sistema ROSA®.

Antes do tratamento, os grânulos apresentavam-se, predominantemente, nas dimensões de 1,70 e 1,41 mm. Após o tratamento, observa-se uma redução das dimensões

do tamanho dos grânulos uma vez que estes são maioritariamente retidos no crivo 1,41 mm. Adicionalmente, também se observa o aumento da percentagem de grânulos nos menores tamanhos, nomeadamente, as malhas 1,00 mm, 0,85 mm e 0,71 mm.

Esta observação, em conjunto com o aumento da massa volúmica, é explicada pelo efeito que as altas temperaturas e o vapor de água têm na cortiça. Esta junção faz com que as células da cortiça comprimam¹ e, conseqüentemente, as suas dimensões diminuam e a sua densidade aumente.

4.1.5. Humidade

No Anexo 3 – 3.3 está a Tabela 16 com os valores iniciais de humidade medidos. No início do processo, os valores de humidade estavam num intervalo entre 6,23 e 11,79% e após o granulado ter sido sujeito ao sistema ROSA®, a humidade aumentou para valores entre 10,00 e 13,00%.

Na Tabela 6 estão representados os valores médios e respetivos desvios padrão da humidade média antes e após tratamento.

Tabela 6 – Humidade média de todos os valores antes e após o sistema ROSA®.

	Antes do sistema ROSA®	Após o sistema ROSA®
Humidade média (%)	7,64	11,10
Desvio Padrão	1,03	0,88

A humidade aumentou, em média, 3,46%. Este acontecimento já era esperado uma vez que o granulado está em contato com o vapor de água durante uma hora. Este aumento da humidade faz com que o grânulo tenha um peso superior, refletido no aumento da massa volúmica atrás referido (Tabela 5).

4.1.6. Conclusão

Apesar de uma boa eficácia na redução de TCA, o sistema ROSA® não foi capaz de descontaminar suficientemente o granulado com contaminação acima de 10 ng/L. Os valores após o tratamento ainda continham TCA acima dos limites de quantificação e deteção do método, facto que se observou também na quantificação de TCA “total”. Contudo, no fabrico de rolhas microaglomeradas, este TCA residual sofre uma redução significativa. A massa

volúmica e a humidade aumentaram, consequência das grandes quantidades de vapor de água utilizadas no sistema ROSA®. Devido às temperaturas elevadas e, também, ao vapor de água, as dimensões dos grânulos diminuíram o que produz um acréscimo de custos na produção de rolhas.

4.2. Avaliação da eficácia do sistema ROSA® e FBT no tratamento de granulados de cortiça altamente contaminados

Com o objetivo de avaliar a eficácia combinada de duas tecnologias na remoção de TCA, foram utilizados granulados RCT (3 a 7 mm) dado que, fisicamente, os granulados RN não podem ser tratados no sistema FBT, por terem um peso específico demasiado baixo. O tratamento dos granulados RCT foi então processado através dos seguintes sistemas: ROSA®, seguido, de micro-ondas e, finalmente, FBT.

Para a avaliação dos tratamentos acima referidos, quantificou-se TCA libertável e total e fez-se a medição da massa volúmica, granulometria, humidade nas várias etapas do processo: receção do granulado na unidade industrial *Equipar*; entrada e saída do tratamento ROSA®; após a ação do micro-ondas; receção do granulado na unidade industrial *De Sousa* (MPS); e, por fim, à saída da tecnologia FBT.

4.2.1. TCA libertável

Na Tabela 7 estão os valores obtidos da análise do granulado ao longo das diferentes etapas do estudo.

Tabela 7 - Valores de TCA libertável ao longo do processo. Receção: n=5; Entrada do ROSA® e após o ROSA®: n=6; Receção MPS e após FBT: n=10, sendo n o número de amostras analisadas em cada etapa.

Fase	TCA libertável (ng/L)													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média	DP	Max	Min
Receção	15,30	10,30	10,60	12,20	8,30						11,34	2,61	15,30	8,30
Entrada do ROSA®	8,60	6,56	1,20	3,27	5,96	11,13					6,12	3,57	11,13	1,20
Após ROSA® (saída do secador)	2,01	1,10	1,48	1,09	1,30	4,81					1,97	1,43	4,81	1,09
Após Micro-ondas	Não controlado													
Receção MPS	1,39	0,85	1,28	1,06	1,12	0,88	1,25	1,00	1,07	1,18	1,11	0,17	1,39	0,85
Após ROSA® + FBT	0,14	0,38	0,28	0,17	0,68	0,50	0,44	0,40	0,40	0,22	0,36	0,16	0,68	0,14

Iniciou-se o processo com um granulado que possuía, em média, 11,34 ng/L de TCA. Entre a receção do granulado e a entrada do ROSA®, essa contaminação diminuiu; contudo, esta diferença de resultados pode-se explicar pela elevada volatilidade do composto que, em contato com o ar e a temperaturas um pouco mais altas, liberta-se facilmente. No entanto, esta diferença também se pode explicar pela amostragem do granulado para análise. À receção, as amostras foram retiradas dos topos dos sacos enquanto que à entrada do ROSA® foram retirados das tubagens de alimentação do sistema.

Após o sistema ROSA®, à saída do secador, nota-se uma redução dos valores de TCA de um máximo de 11,13 ng/L para 4,81 ng/L. Este decréscimo é significativo, contudo não se atinge o objetivo pois há TCA acima dos limites de quantificação do método de análise (0,50 ng/L).

Na receção na unidade MPS, os valores de TCA foram ainda menores do que aqueles obtidos após o ROSA®. Esta situação deve-se ao efeito do tratamento no micro-ondas, pois aí o granulado é sujeito a temperaturas elevadas, o que permite remover parcialmente TCA.

Por fim, após a tecnologia FBT, o granulado apresentou valores de TCA residuais abaixo dos limites de quantificação do método de análise (0,50 ng/L). Em todas as amostras os valores de TCA foram inferiores ou iguais ao limite acima mencionado, exceto numa amostra cujos resultados se encontram dentro da variação de TCA do método utilizado.

Desde o início do processo (receção) até ao final houve uma redução de 10,98 ng/L, ou seja, 96,83% em média. Entre a receção e após o ROSA®, a redução foi cerca de 82,63% e no intervalo do após ROSA® e após FBT, a redução foi, em média, 81,73%. Com isto, comprova-se que ambas as tecnologias têm eficácias muito próximas e, trabalhando em sequência, atingem uma elevada eficácia.

4.2.2. TCA “total”

A análise de TCA “total” permite saber a quantidade de TCA que os grânulos possuem no seu interior e que, após um longo período de tempo, pode migrar para a superfície. Na Tabela 8 estão os valores da análise efetuada à receção dos granulados na unidade MPS e após a tecnologia FBT.

Tabela 8 - Valores de TCA “total” após o tratamento ROSA® e no final do processo (n=5).

Fase	Análise	TCA total (ng/g de cortiça)								
		1	2	3	4	5	Média	DP	Max	Min
Receção MPS	I&D	0,60	0,64	0,65	0,56	0,59	0,61	0,04	0,65	0,56
Após ROSA® + FBT	I&D	0,28	0,27	0,09	0,20	0,10	0,19	0,09	0,28	0,09

Os valores de TCA total na receção já foram bastante baixos, visto que o sistema ROSA® possui uma elevada eficácia. No entanto, após o tratamento com a tecnologia FBT, estes valores tiveram ainda um decréscimo de 0,42 ng/g de cortiça o que equivale a uma diminuição de 68,85%.

Como é natural, ambos os sistemas atingem melhores resultados na erradicação de TCA libertável do que no TCA total. Devido à estrutura celular da cortiça e à baixa permeabilidade a gases que possui, o TCA intrínseco na estrutura celular é extremamente difícil de ser eliminado, facto comprovado pelos valores obtidos nas Tabelas 7 e 8.

4.2.3. Massa Volúmica

Na Figura 20 estão os valores das massas volúmicas medidas nas várias etapas do processo.

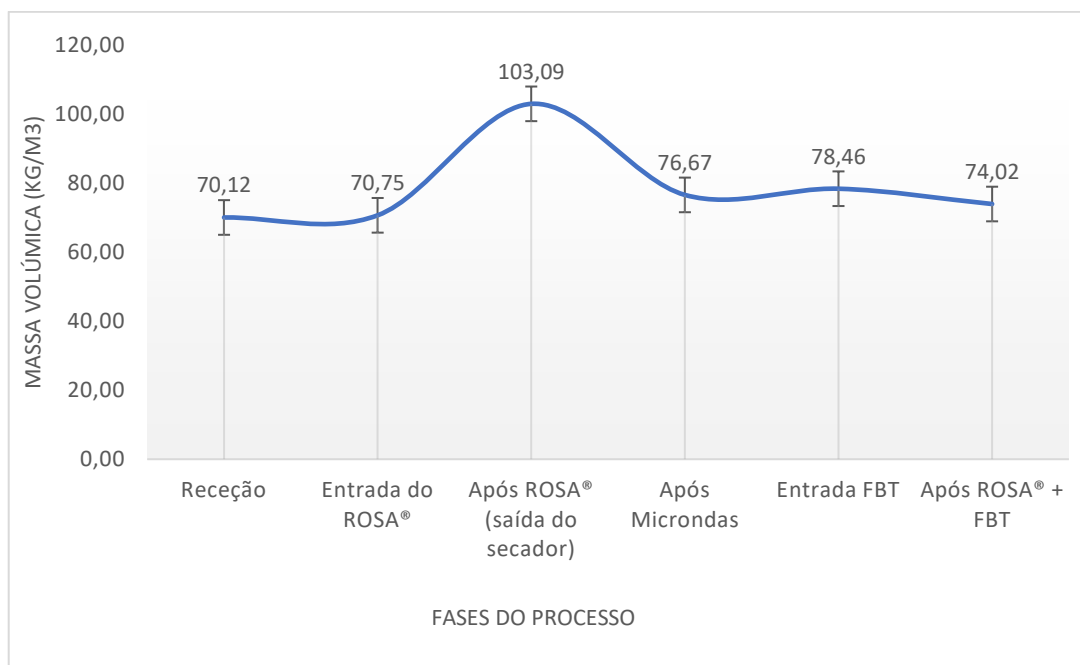


Figura 20 – Valores de massa volúmica, em unidades SI, ao longo do processo.

Inicialmente, tem-se uma massa volúmica de $70,12 \text{ kg/m}^3$ que se mantém igual até à saída do ROSA®, após o secador. Este é o máximo que se atinge como se observa na Figura 19. Para não haver uma grande diferença entre a massa volúmica à entrada do ROSA® e do FBT, o granulado passou pelo micro-ondas. A massa volúmica diminuiu de $103,09 \text{ kg/m}^3$ para $76,67 \text{ kg/m}^3$, um valor mais próximo da inicial. Após o tratamento na tecnologia FBT, constatou-se uma ligeira redução dos valores de massa volúmica.

Tabela 9 - Valores da subtração, em módulo, dos valores das massas volúmicas em cada etapa, sendo n o valor da etapa e n+1 o da etapa seguinte.

Etapas do processo	Diferença em módulo (kg/m³) n+1 – n
Receção <i>Equipar</i>	-
Entrada do ROSA®	0,63
Após ROSA®	32,34
Após micro-ondas	26,42
Receção MPS	1,80
Após ROSA® + FBT	4,44

Pela observação da Figura 20 e a análise da Tabela 9, comprova-se que a tecnologia ROSA® aumenta, de facto, a massa volúmica. Este fenómeno também aconteceu na avaliação da tecnologia, Tabela 15, onde é nítido o aumento da massa volúmica.

Estes resultados confirmam que as tecnologias de micro-ondas e de FBT permitem reverter parcialmente o aumento de massa volúmica provocada pelo tratamento ROSA®.

4.2.4. Granulometria

Na Figura 21 observa-se a distribuição granulométrica ao longo do processo.

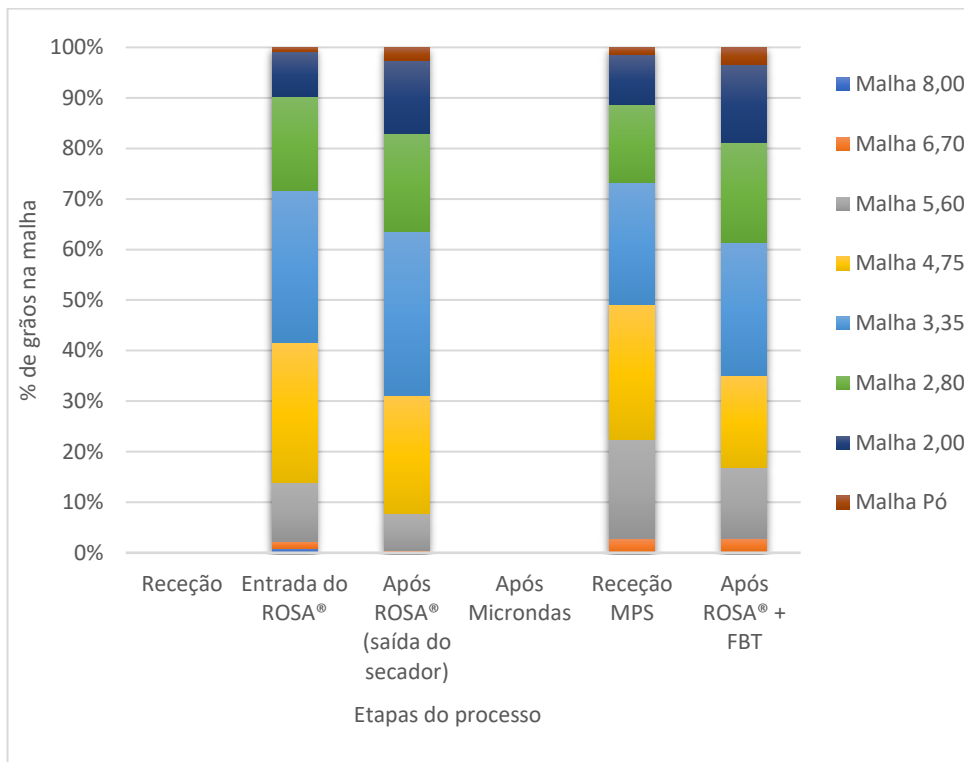


Figura 21 - Granulometria em cada etapa do processo.

Pela análise da Figura 21 verifica-se que na entrada do ROSA® o granulado tem dimensões intermédias, maioritariamente entre as malhas 3,35 e 4,75. Após o tratamento, o granulado diminuiu de dimensões devido à ação do vapor e das altas temperaturas. Esta observação está de acordo com o aumento da massa volúmica que se observou na Figura 20 uma vez que o grânulo possui um peso maior, mas um tamanho menor. Este fenómeno é explicado por Fortes, *et al*¹ que mostram como o vapor de água a altas temperaturas comprime radialmente a cortiça após secagem.

Seguiu-se o micro-ondas, onde não foi possível fazer o controlo da granulometria, contudo na receção do granulado na MPS esse controlo já foi efetuado. Os resultados obtidos na receção da MPS, mostram o efeito do micro-ondas na dilatação dos grânulos. Assim, o granulado entrou na tecnologia FBT com uma distribuição de dimensões mais equilibrada.

À saída do tratamento FBT constatou-se um acréscimo de pó no granulado. A distribuição de dimensões do granulado tende para as malhas de menor tamanho. Desta

forma, o granulado final possui grânulos de menor tamanho que o inicial, comprovado também pelo valor final de massa volúmica que é superior à inicial.

4.2.5. Humidade

Os valores obtidos de humidade estão presentes na Figura 22.

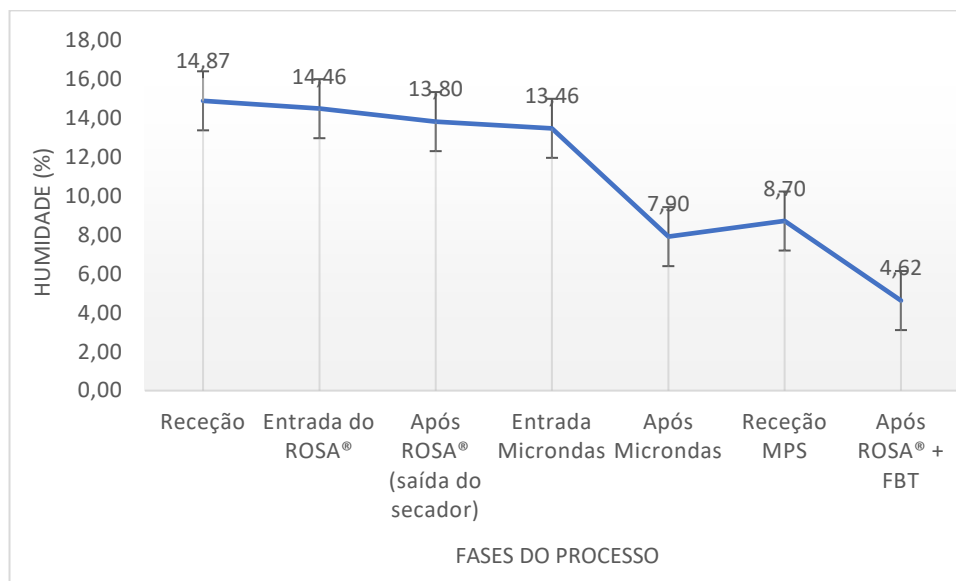


Figura 22 – Valores da humidade obtidos ao longo do processo.

Desde o início do processo até à saída do tratamento ROSA® a humidade não sofreu grandes alterações. Na fase do micro-ondas, a humidade teve um grande decréscimo devido às ondas eletromagnéticas que incidiram no granulado. Após o tratamento FBT, também o granulado teve outra diminuição no teor de humidade. O granulado esteve sujeito a temperaturas elevadas e permaneceu em suspensão e agitação durante o tratamento, o que fez com que o grânulo perdesse humidade. Esta perda de humidade faz com que o grânulo seja de menor tamanho. Este parâmetro é extremamente importante pois nas operações posteriores de produção de rolhas, nomeadamente, no processo de moldação, o teor de humidade é crítico na reticulação e polimerização do aglutinante/cola.

4.2.6. Conclusão

Em suma, no sistema ROSA® também houve aumento da massa volúmica, acontecimento observado no estudo anterior (Secção 4.1.3). Com a tecnologia FBT, essa consequência foi atenuada. As dimensões do grânulo sofreram uma diminuição de tamanho em ambas as fases devido ao vapor de água e às altas temperaturas dos tratamentos. Registou-se um decréscimo da humidade na tecnologia FBT uma vez que o granulado se mantém suspenso e em agitação com vapor de água a temperaturas elevadas. Os tratamentos ROSA® e FBT apresentam uma elevada eficácia na redução de TCA acima de 10,0 ng/L para valores residuais menores que o limite de quantificação e deteção do método de análise.

Repetir os tratamentos em estudo, ROSA + ROSA ou FBT+ FBT, também não parece trazer alguma vantagem dado que a massa volúmica e a humidade seriam profundamente afetadas, como podemos concluir a partir de um só de cada um destes tratamentos, cujos resultados são apresentados neste trabalho. Os grânulos teriam menores dimensões e, consequentemente, iria ser necessário uma maior quantidade de granulado para a produção de rolhas.

Dado que o ROSA aumenta significativamente o peso específico do granulado e o FBT mantém esse peso específico, se em vez da sequência de tratamento ser ROSA + FBT fosse FBT + ROSA o resultado seria catastrófico para a massa volúmica pelo que não fez qualquer sentido testar esta sequência.

5. Conclusão final

O sistema ROSA® é altamente eficaz na redução de TCA de grânulos de cortiça permitindo a redução do TCA libertável em 89,01%. No entanto, os valores residuais detetados nos grânulos ainda sofrem uma redução adicional durante o processo de produção das rolhas microaglomeradas *Neutrocork*, o que permite garantir que estas rolhas não apresentarão TCA libertável suscetível de contaminar os vinhos. Este processo tem o inconveniente de originar um aumento de 12,29% da massa volúmica o que, consequentemente, aumenta os custos de produção destas rolhas.

A tecnologia FBT após o sistema ROSA® permite uma remoção total de TCA libertável de grânulos de cortiça para 96,83% minimizando, em associação à tecnologia micro-ondas, o incremento de massa volúmica normalmente observado no sistema ROSA®.

6. Trabalhos Realizados

Ao longo do estágio, várias foram as vertentes exploradas na análise de TCA. Desde a análise de TCA, libertável e “total”, em rolhas de cortiça e granulados, até à análise de TCA em vinhos e respetivas rolhas.

O laboratório I&D recebe reclamações de vinhos com contaminação por TCA e é necessário analisar o vinho e a rolha de forma a saber a origem do problema. Esta análise é feita por espectrofotometria de massa (MS) utilizando o 2,4,6-tricloroanisol marcado com deutério como padrão interno.

Também são feitas no laboratório macerações internas, para haver um stock de rolhas contaminadas que são utilizadas em vários projetos de erradicação de TCA em rolhas naturais e granulados, com a colaboração de outras entidades dentro e fora de Portugal.

Diariamente, o laboratório recebe 900 a 1000 amostras para analisar o TCA libertável em produtos de cortiça e, semanalmente, é feita análise de TCA “total” em rolhas *Neutrocork Premium*.

7. Anexos

Anexo 1 - Material utilizado

➤ Material

- Granulado RCT, calibre 3x7 mm (Figura 8);
- Granulado RN, calibre 1x2 mm;
- Rolhas aglomeradas, calibre 45x24 mm;
- Frascos herméticos de 500 ml;
- Pipetas de 10 ml;
- Pipetas de 200 µl;
- Seringa Shimadzu de 10µL;
- Tubos de cromatografia de 20 ml com dimensões 22,5x75,5mm;
- Cápsulas magnéticas de 20mm com septo de silicone;
- Fibra de polidimetilsiloxano (PDMS) de 100µm;
- Coluna apolar DR5-MS composta por sílica capilar (comprimento 30m, diâmetro 0,25mm e espessura 0,25µm) com uma fase estacionária de difenilpolidimetilsiloxano (5% - 95%).

➤ Equipamentos

- Agitador elétrico;
- GC/ECD-Bruker 450-GC.

➤ Reagentes

- Álcool etílico a 96%;
- Água desionizada (tipo I);
- Solução etanólica a 12% (V/V);
- Cicloexano com 99,5% de pureza;
- Cloreto de sódio;
- 2,3,6-Tricloroanisol;
- 2,3,6-Tricloroanisol em cicloexano.

Anexo 2 – Preparação de programação das retas de calibração

Anexo 2.1 - Para análise de TCA libertável

Para a preparação da solução e sucessivas diluições de 2,4,6-TCA, pesou-se 10 mg de 2,4,6-TCA e dissolveu-se num balão de 100 ml com etanol a 96%. A concentração obtida desta solução 1 foi de 100 mg/L. Na Tabela 10 estão descritas as diluições a partir da solução 1, a solução mãe, até à solução 5.

Tabela 10 - Diluições num balão de 100 ml com etanol a 96% a partir da solução 1.

Diluição (ml)	Concentração obtida (µg/L)	Solução diluída	Solução nova
0,1	100	1	2
10	10	2	3
	1,0	3	4
	0,1	4	5

Também foi necessário preparar a solução mãe de padrão interno e as suas sucessivas diluições. Para isso, pesou-se 10 mg de padrão 2,3,6-TCA e dissolveu-se num balão de 100 ml com etanol a 96%. Obteve-se a concentração de 100 mg/L para a solução 1. Na Tabela 11 estão descritas as duas diluições efetuadas a partir da solução mãe.

Tabela 11 - Diluições num balão de 100 ml com etanol a 96% a partir da solução 1.

Diluição (ml)	Concentração obtida (µg/L)	Solução diluída	Solução nova
0,1	100	1	2
2,0	2,0	2	3

Preparadas as soluções e respetivas diluições, preparou-se as soluções para a construção da reta de calibração. Na Tabela 12 estão descritas as soluções utilizadas para a construção da reta de calibração.

Tabela 12 - Quantidades e soluções para a preparação da reta de calibração.

Concentração teórica do padrão (ng/L)	Solução etanólica a 12% (mL)	Volume pipetado da solução 4 (µL) de 2,4,6-TCA	Volume pipetado da solução 5 (µL) de 2,4,6-TCA	Volume pipetado da solução 3 (µL) de padrão interno	Concentração real padrão (ng/L) ¹
0,5	10	-	50	100	0,498
1,5		-	150		1,478
2,5		25	-		2,494
3,5		35	-		3,488
4,5		45	-		4,480
5,5		55	-		5,470

¹ concentração programada no software dos cromatógrafos

Anexo 2.2 - Para a análise de TCA total

Na análise de TCA total, utilizou-se cicloexano como solvente. Na Tabela 13 estão descritas as soluções-padrão utilizadas para a preparação da curva de calibração.

Tabela 13 - Soluções padrão para a preparação da reta de calibração.

Concentração teórica do padrão (ng/L)	Cicloexano (ml)	Volume pipetado (µL) de solução de 2,4,6-TCA de 50 µg/L	Volume pipetado (µL) da solução de padrão interno 100 µg/L
0	9,8	-	200
200		40	
400	9,7	80	
600		120	
1000	9,6	200	

Anexo 3 – Validação do sistema ROSA®

Anexo 3.1 – Valores de TCA libertável

Tabela 14 - Valores de TCA libertável antes de ROSA (n=48).

Fase	Receção		Fase	Receção	
TCA libertável (ng/L)	1	7,69	TCA libertável (ng/L)	25	6,77
	2	10,36		26	7,94
	3	9,77		27	5,93
	4	7,86		28	7,10
	5	8,47		29	8,00
	6	8,77		30	5,13
	7	9,71		31	7,36
	8	7,73		32	6,12
	9	9,42		33	5,54
	10	8,15		34	5,96
	11	4,65		35	3,77
	12	5,07		36	4,98
	13	5,77		37	3,50
	14	9,62		38	2,70
	15	7,68		39	4,10
	16	5,02		40	3,80
	17	7,06		41	3,80
	18	4,58		42	7,57
	19	4,79		43	7,53
	20	5,21		44	6,35
	21	6,77		45	8,85
	22	6,57		46	7,16
	23	5,24		47	8,71
	24	8,69		48	10,39

Anexo 3.2 – Valores medidos da massa volúmica

Na Tabela 15 pode-se observar os valores medidos antes e após o sistema ROSA®. No início foram analisadas 24 amostras e no fim do processo foram 10 amostras analisadas.

Tabela 15 - Valores de massa volúmica medidas antes e após o sistema ROSA, corrigidas para 8% de humidade.

Fase		Antes do sistema ROSA®	Após o sistema ROSA®	Fase		Antes do sistema ROSA®	Após o sistema ROSA®
Massa volúmica a 8% (kg/m³)	1	59,80	70,30	Massa volúmica a 8% (kg/m³)	1	61,77	69,15
	2	59,03	69,24		2	59,61	67,05
	3	59,30	69,13		3	57,86	67,59
	4	61,03	68,42		4	58,82	67,46
	5	60,87	70,16		5	61,44	67,92
	6	61,47			6	60,33	
	7	61,01			7	57,90	
	8	61,02			8	58,47	
	9	61,35			9	58,76	
	10	61,67			10	60,54	
	11	62,81			11	59,91	
	12	59,58			12	60,65	
	Média	61,02			69,24	Média	
	DP	1,11	0,78		DP	1,32	0,80
	Max	62,81	70,30		Max	61,77	69,15
	Min	59,03	68,42		Min	57,86	67,05

Anexo 3.3 – Valores medidos da humidade

Nas Tabelas 16 pode-se observar os valores de humidade medidos antes e após o sistema ROSA®. Inicialmente, tem-se um total de 24 amostras e no fim do tratamento de 10 amostras.

Tabela 16 - Valores medidos da humidade antes e depois do sistema ROSA®.

Fase		Antes do sistema ROSA®	Após o sistema ROSA®	Fase		Antes do sistema ROSA®	Após o sistema ROSA®
Humidade (%)	1	11,79	11,00	Humidade (%)	1	7,82	11,00
	2	6,85	11,00		2	7,60	13,00
	3	7,55	10,00		3	7,06	12,00
	4	8,11	10,00		4	7,69	11,00
	5	6,90	11,00		5	7,35	11,00
	6	7,60			6	7,77	
	7	8,59			7	7,26	
	8	6,90			8	7,38	
	9	6,71			9	8,00	
	10	7,30			10	7,79	
	11	7,46			11	8,26	
	12	6,23			12	7,31	
	Média	7,80	10,60		Média	7,61	11,60
	DP	1,45	0,55		DP	0,35	0,89
	Max	11,79	11,00		Max	8,26	13,00
	Min	6,23	10,00		Min	7,06	11,00

8. Bibliografia

1. Fortes, M., Pereira, H. & Rosa, M. E. "A cortiça". (IST Press, 2004).
2. Silva, S. P. *et al.* "Cork: properties, capabilities and applications". *Int. Mater. Rev.* **50**, 345–365 (2005).
3. Gil, L. Cortiça. In: M. Clara Gonçalves, Fernanda Margarido (eds.), "Ciência e Engenharia de Materiais de Construção", IST, 2012, cap. 13, p. 663-715, ISBN 978-989-8481-17-7.
4. Gil, L. "A Química da Cortiça: ponto da situação". *Química* 20–24 (1993).
5. Januário da Silva, M. F. "O 2,4,6-tricloroanisol extraído de rolhas de cortiça para solução etanólica". 1–74 (2013).
6. Pereira, H. "Chemical composition and variability of cork from *Quercus suber* L" . **218**, 211–218 (1988).
7. Amaral, D., Fernandes, J., Jácome, R., Gomes, R. & Valente, S. "Como se fazem as rolhas de cortiça?" (2012).
8. APCOR. Rolhas Naturais. (2015). Available at: <http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/percurso-industrial/rolhas-naturais/>. (Accessed: 1st May 2018)
9. APCOR. Rolhas Aglomeradas. *Rolhas de Cortiça* Available at: <http://www.apcor.pt/produtos/rolhas/rolhas-aglomeradas/>. (Accessed: 5th May 2018)
10. APCOR. APCOR – Rolhas técnicas. Available at: <http://www.apcor.pt/cortica/processo-de-transformacao/percurso-industrial/rolhas-tecnicas/>. (Accessed: 5th May 2018)
11. APCOR. APCOR – Rolhas Técnicas. Available at: <https://www.apcor.pt/produtos/rolhas/rolhas-tecnicas/>. (Accessed: 21st August 2018)
12. AMORIM. Spark®. Available at: <https://www.amorimcork.com/pt/products/catalogue/spark/>. (Accessed: 5th May 2018)
13. Juanola, R., Subirà, D., Salvadó, V., Garcia Regueiro, J. A. & Anticó, E. "Migration of 2,4,6-trichloroanisole from cork stoppers to wine". *Eur. Food Res. Technol.* **220**, 347–352 (2005).
14. SEFTON, M. A. & SIMPSON, R. F. "Compounds causing cork taint and the factors

- affecting their transfer from natural cork closures to wine – a review." *Aust. J. Grape Wine Res.* **11**, 226–240 (2005).
15. Juanola, R. *et al.* "Relationship between sensory and instrumental analysis of 2,4,6-trichloroanisole in wine and cork stoppers." *Anal. Chim. Acta* **513**, 291–297 (2004).
 16. Riu, M., Mestres, M., Busto, O. & Guasch, J. "Determination of total chloroanisoles in different kinds of cork stoppers." *Anal. Chim. Acta* **563**, 310–314 (2006).
 17. SIMPSON, R. F. & SEFTON, M. A. "Origin and fate of 2,4,6-trichloroanisole in cork bark and wine corks." *Aust. J. Grape Wine Res.* **13**, 106–116 (2007).
 18. Pereira, C. "O Problema do Odor a Mofo nas Rolhas de Cortiça e Processos para a sua Redução / Eliminação." **14**, 101–111 (2006).
 19. Cabral, M., Roseira, I. & Dahl, S. "Dispositivo para a extração de compostos voláteis por vaporização de água em rolhas de cortiça e/ou em peças de cortiça utilizadas na produção de rolhas." **00**, (2007).
 20. Cabral, M. "Cork product treatment system and apparatuses by extraction of compounds dragged in water vapour." (2004).
 21. Silva, A. ; "Estudo da Relação entre Parâmetros de Qualidade de Rolhas de Cortiça e a sua Contaminação com 2,4,6- Tricloroanisol." 86 (2009).